Aus dem pathologischen Institut zu Giessen.

Hamburger's Blutkörperchenmethode

in ihren Beziehungen

zu den Gesetzen des osmotischen Drucks.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär-medicinischen Doktorwürde

der

Hohen medicinischen Fakultät

der

Grossherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität Giessen

vorgelegt von

Josef Willerding

approb. Thierarzt aus Hohenhameln.

Mit einer Abbildung im Text.

Giessen 1897.

v. Münchow'sche Hof- und Universitäts-Druckerei.

Aus dem pathologischen Institut zu Giessen.

Hamburger's Blutkörperchenmethode

in ihren Beziehungen

zu den Gesetzen des osmotischen Drucks.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär-medicinischen Doktorwürde

der

Hohen medicinischen Fakultät

der

Grossherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität Giessen

vorgelegt von

Josef Willerding

approb. Thierarzt aus Hohenhameln.

Mit einer Abbildung im Text.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Giessen 1897.

v. Münchow'sche Hof- und Universitäts-Druckerei.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538110_0103

Meinen Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet.

Durch Hamburger's Blutkörperchen-Methode ist es möglich, gewisse Eigenschaften von Blutbestandteilen kennen zu lernen. Wie glücklich der Griff war, von dem von Hamburger angegebenen Gesichtspunkte aus Blutuntersuchungen vorzunehmen, beweisen sowol die zahlreichen Mitteilungen über Versuche mit dieser Methode von Hamburger selbst, als auch von anderen Autoren, welche die angegebene Richtung weiter verfolgten.

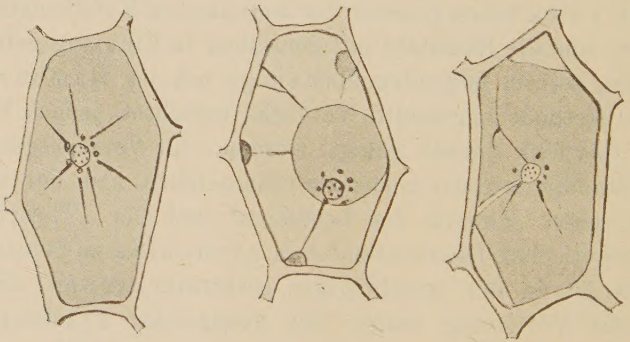
Während die ersten Mitteilungen Hamburger's sich auf die de Vries'schen Gesetze der isotonischen Koëfficienten beziehen, und die Resultate mit denselben in Einklang gefunden werden, soll im folgendem über einige mit der Hamburger'schen Methode angestellte Versuche berichtet, jedoch besonders Gewicht darauf gelegt werden, die Versuchsresultate vom Standpunkte der modernen Osmoselehre, also der van 't Hoff'schen „Theorie der Lösungen" und der „Theorie der elektrolytischen Dissociation" von Arrhenius zu betrachten. Dieses ist in der einschlägigen Litteratur, soweit dieselbe mir zur Verfügung stand, mit genügender Präcision wol noch nicht geschehen. Es ist dieses nicht auffällig, da einmal die Anfänge der Lehre vom osmotischen Druck kaum ein Decennium zurückreichen, und dieselbe auch heute noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden kann, dann besonders, da die Ergebnisse der Hamburger'schen Blutkörper-

chen-Methode, welche das Seitenstück der de Vries'schen plasmolytischen Methode darstellt, mit letzterer erst mithelfen mussten, um die Kräfte, die bei verdünnten Lösungen in Wirksamkeit treten, in für alle gelösten Stoffe gültigen Gesetzen zum Ausdruck zu bringen.

I. Die plasmolytische Methode von de Vries.

De Vries[1]) beobachtete unter dem Mikroskop die Einwirkung von Lösungen verschiedener Stoffe auf geeignete Pflanzenzellen. Man kann diesen de Vries'schen Versuch sehr leicht selbst anstellen.

Es werden zu dem Versuch die sechseckigen, violett gefärbten Zellen der Epidermis von der Unterseite der Blätter der Tradescantia discolor genommen, welche de Vries als sehr geeignet empfiehlt. Man versetzt dieselben unter dem Mikroskop mit einer genügend starken Lösung eines Salzes z. B. mit einer NaCl-Lösung von 5% und erhält dann folgendes sehr deutliche Bild. Während das



A B C

gefärbte Protoplasma in der normalen Zelle A überall der Zellhaut anliegt, hat sich dasselbe nach dem Zusatz der

[1]) Das Litteraturverzeichnis ist am Schluss angefügt.

Salzlösung in Figur B von der Zellhaut zurückgezogen, welche selbst ihre ursprüngliche Form behalten hat. Diesen Vorgang nennt de Vries „Plasmolyse“. Auf Grund der Befunde Naegeli's, welcher nachwies, dass die Zellhaut für Wasser und Salze, das lebende Protoplasma aber nur für Wasser durchgängig ist, erklärt sich der obige Befund folgendermassen. Die Salzlösung tritt durch die Zellhaut und dringt bis zum Zellprotoplasma vor. Da nun die angewandte Salzlösung höher concentriert ist, als der Zellsaft und infolgedessen ein höheres Wasseranziehungsvermögen hat als letzteres, so wird dem Protoplasma, das nur Wasser aber kein Salz durchtreten lässt, Wasser entzogen werden infolge osmotischer Kräfte, welche dahin wirken, die Konzentrationsdifferenz zwischen innen und aussen auszugleichen. So schrumpft der Protoplast infolge des Wasserverlustes und zieht sich von der Zellhaut zurück. Nimmt man eine schwächere Konzentration, als die zuerst benutzte 5% Lösung, so erfolgt nur eine geringere Retraction des Protoplasmas, bis in einer Schritt um Schritt verringerten Konzentration keine Veränderung mehr, dann aber Quellung des Protoplasmas und schliesslich Sprengung der Zellhaut als Folge der Quellung des Protoplasten wahrzunehmen ist.

Hugo de Vries suchte nun unter den verschiedenen Konzentrationen eines Salzes diejenige auf, welche eben ein minimales Schrumpfen an einer Ecke des Protoplastes hervorrief, Fig. C., also den geringsten Grad von Plasmolyse verursachte. Die gefundene Konzentration hatte also ungefähr dasselbe Wasseranziehungsvermögen wie der Zellsaft, und er nannte sie „isotonisch“ mit demselben (ἴσος gleich, τόνος Spannung).

Auf diese Weise suchte er für die verschiedensten Stoffe die Lösungen auf, welche Plasmolyse verursachten. Die gefundenen Konzentrationen, welche also auch unter sich isotonisch waren, stellte de Vries nun zusammen und verglich sie unter einander, aber nicht nach ihrem Prozent-

gehalt, sondern nach der Anzahl der in 1 l gelöst enthaltenen Moleküle, d. h. z. B.: da NaCl das Molekulargewicht 58,5 hat, so erhält man, wenn man 58,5 g NaCl in 1 l löst, eine Konzentration von 1 g Mol. = 5,85 %.

Eine Lösung von 0,1 g Mol. NaCl = 0,585 % NaCl erhält man also, wenn man 5,85 g NaCl in 1 l löst u. s. w. Hugo de Vries ordnete nun die gefundenen isotonischen Konzentrationen nach der Anzahl Moleküle, welche dieselben gelöst enthielten, und er konnte dieselben in 4 Gruppen unterbringen.

Es waren isotonisch:

1. Lösungen organischer Verbindungen und Lösungen von Salzen der Erdalkalimetalle, letztere mit einem Molekül Säure } von 0,22 g Mol.;
2. Lösungen von Salzen der Alkalimetalle mit einem Atom Metall im Molekül von 0,15 g Mol.;
3. Lösungen von Salzen der Alkalimetalle mit 2 Atomen Metall im Molekül und Lösungen von Salzen der Erdalkalimetalle mit 2 Molekülen Säure } von 0,11 g Mol.;
4. Lösungen von Salzen der Alkalimetalle mit 3 Atomen Metall im Molekül } von 0,09 g Mol.

Gleiche Anzahl gelöster Moleküle von Stoffen, die derselben Gruppe angehörten, hatten also bei der Probe durch die de Vries'sche Methode gleiches Wasseranziehungsvermögen. Bei dem Vergleich der obigen 4 Gruppen unter sich verhielten sich aber gleiche Anzahl gelöster Moleküle in Bezug auf ihr Wasseranziehungsvermögen wie 0,22 : 0,15 : 0,11 : 0,09. Aus praktischen Gründen ersetzte de Vries obige Brüche durch ganze Zahlen und das Verhältnis lautete dann 5 : 4 : 3 : 2, und er nannte diese Verhältniszahlen „isotonische Koëfficienten“. Dieselben zeigen also an, mit welch' grösserer oder geringerer Kraft 1 Molekül eines Stoffs der einen Gruppe Wasser anzieht, als das einer anderen der 4 Gruppen.

Es trat bei den durch die Methode aufgefundenen isotonischen Konzentrationen der verschiedenen Stoffe deutlich zu Tage, dass dieselben, obwohl gewichtsprozentisch ganz verschieden, in gewissen Beziehungen standen zu der Anzahl der in ihnen gelöst enthaltenen Moleküle, wenn auch letztere in Bezug auf ihr Wasseranziehungsvermögen nicht ganz den gleichen Wert hatten. Für letzteres Verhalten fand de Vries vorläufig keine Erklärung, und er begnügte sich damit, die empirisch gefundene Thatsache in seinen isotonischen Koëfficienten auszudrücken.

II. Die Blutkörperchen-Methode von Hamburger.

Die Befunde von de Vries veranlassten Hamburger[5]) zu untersuchen, ob ein Vorgang, wie ihn de Vries an der Pflanzenzelle beobachtet hatte, auch bei der tierischen Zelle wiedergefunden werde.

Er nahm zu seinen Untersuchungen die roten Blutkörperchen. An den Erythrocyten einiger Tierarten (Huhn, Schwein, Frosch) konnte Hamburger nun wol bei Zusatz von entsprechend konzentrierten Salzlösungen zu dem mikroskopischen Präparat eine Erscheinung beobachten, welche Ähnlichkeit mit der de Vries'schen Plasmolyse hatte. Der Inhalt der Blutkörperchen nämlich zog sich von der Peripherie zurück, oder zeigte Spalten und Risse, oder die Blutkörperchen wurden platt und steif[5]). An eine bestimmte Salzkonzentration waren diese Erscheinungen aber nicht gebunden, und deshalb war es ausgeschlossen, auf diese Weise exakte Resultate zu erzielen. Hamburger stellte nun einen Versuch an, den er wie folgt beschreibt:[5])

„Fügt man in einem Reagensglase 2 ccm defibrinierten Rinderblutes zu einer etwa zehnfachen Quantität einer 1,04 prozentigen oder konzentrierteren Kalinitratlösung hinzu, so setzen die Blutkörperchen sich vollkommen zu Boden, während eine klare, fast farblose Flüssigkeit darüber stehen bleibt. Gewöhnlich kann man drei Schichten unterscheiden.

1) eine dichte, unterste, welche die meisten Blutkörperchen enthält, 2) eine scharf von der untersten getrennte Schicht mit sehr wenig Blutkörperchen und 3) eine fast farblose, schwach lichtgelbe Schicht, welche allmählich in die mittlere übergeht, mit Blutkörperchen, welche von jenem der mittleren Schicht mikroskopisch nicht zu unterscheiden sind. Allmählich sinkt die mittlere Schicht und geht gänzlich in die unterste auf, sodass schliesslich nur zwei scharf begrenzte übrig bleiben."

„Führt man denselben Versuch mit Salpeterlösungen von 0,96 Prozent und weniger aus, so sieht man, dass nur zwei Schichten zu unterscheiden sind: nämlich eine untere, in welcher desto weniger rote Blutkörperchen vorkommen, je geringer die Konzentration der Salzlösung ist, und eine obere, welche in demselben Verhältnisse röter ist."

Es zeigte sich, dass für dasselbe Blut diese Erscheinung immer bei derselben Konzentration eintrat.

Hamburger suchte nun auch für andere Salze die beiden Grenzlösungen auf, von denen die eine klar, die andere rot gefärbt war. Auch für die Lösungen dieser Stoffe war die beobachtete Erscheinung an eine bestimmte Konzentration geknüpft. Durch den Vergleich je einer der Grenzlösungen der verschiedensten versuchten Stoffe, oder des Mittels der Grenzlösungen trat es nun deutlich zu Tage, dass diese Konzentrationen isotonisch waren im Sinne de Vries. (Siehe Hamburger's erste Versuche in Tabelle 1.) Die Konstanz, mit der der Hämoglobinaustritt immer in einer bestimmten Konzentration erfolgte, berechtigte Hamburger diesen Befund zu seinen Zwecken zu verwerten und als Grundlage für weitere Untersuchungen zu nehmen.

Tabelle 1.

I. Stoffe	II. Gehalt, wobei die Blutkörperchen in einer farblosen Flüssigkeit sich senken	III. Gehalt, wobei die Blutkörperchen weniger vollkommen sich senken und die Flüssigkeit rot ist	IV. Im Durchschnitt	V. Konzentrationen von 1,01 proc. Salpeter isotonischen Lösungen (de Vries)
Kaliumnitrat	1,04 %	0,96 %	1,00 %	1,01 %
Chlornatrium	0,60 „	0,56 „	0,58 „	0,585 „
Kaliumsulfat	1,16 „	1,06 „	1,11 „	1,305 „
Rohrzucker	6,29 „	5,63 „	5,96 „	5,13 „
Kaliumacetat	1,072 „	1,003 „	1,03 „	0,98 „
Kaliumoxalat	1,27 „	1,18 „	1,225 „	1,245 „
Magnesiumsulfat (mit 7 Aq.) . . .	3,52 „	3,26 „	3,39 „	3,69 „
„ (wasserfrei) . . .	1,84 „	1,72 „	1,78 „	1,80 „
Chlorkalium (geschmolzen)	0,853 „	0,794 „	0,823 „	0,832 „

III. Die Erscheinungen und Gesetze des osmotischen Druckes.

Bald nach dem Erscheinen dieser beiden wichtigen Arbeiten wurde von van't Hoff[3]) die Lehre vom osmotischen Druck in ihren Grundzügen festgelegt. Für die späteren Betrachtungen ist die Kenntnis dieser Osmoselehre notwendig, deshalb gebe ich, allerdings nur in gedrängter Kürze, einen Überblick über dieselbe.

Die Lehre vom osmotischen Druck basiert auf van't Hoff's „Theorie der Lösungen". Zum Verständnis derselben sei folgendes verausgeschickt:

Schichtet[10]) man auf eine in einem Gefäss enthaltene wässerige Lösung eines Stoffes reines Wasser, so dass eine mechanische Vermengung beider nicht stattfindet, so wird der Stoff nach einiger Zeit im ganzen Inhalt des Gefässes sich gleichmässig verteilt haben, wie bei Verwendung von gefärbten Stoffen z. B. $CuSO_4$ der Augenschein zeigt; nämlich statt der zwei scharf getrennten Schichten von blauer Kupfersulfatlösung und weissem Wasser findet sich nach einer Weile nur eine blaue aber hellere, weil weniger konzentrierte, $CuSO_4$-Lösung.

Anders[10]) gestaltet sich der Vorgang, wenn man Wasser und Lösung durch eine Niederschlagsmembran trennt, welche nach Traube auf folgende Weise erhalten werden kann. Bringt man Lösungen gewisser Stoffe z. B. Ferrocyankalium und Kupfersulfat, welche mit einander Niederschläge bilden, vorsichtig mit einander in Berührung, so bildet sich an der Berührungsfläche ein zartes Häutchen, die Niederschlagsmembran, welche zwar Wasser leicht durchtreten lässt, dagegen für gewisse andere Stoffe, besonders die beiden benutzten Reagentien vollständig undurchdringlich ist. Befindet sich nun auf der einen Seite der Membran reines Wasser, auf der anderen Seite aber die Lösung eines Stoffes, der nicht durch die Membran hindurchdringen kann, so wird

dieser Stoff, weil er wie vorhin in das Wasser auf der anderen Seite eindringen will, auf die Membran einen Druck ausüben, und diesen Druck nennt man den „osmotischen Druck“ der Lösung.

Um den osmotischen Druck zu messen, liess W. Pfeffer eine solche Niederschlagsmembran in der Wand einer festen, porösen Thonzelle sich bilden und machte so die Membran resistent. Die mit der Lösung, deren Druck bestimmt werden sollte, gefüllte, mit einem Quecksilbermanometer verbundene Thonzelle tauchte er in ein Gefäss mit Wasser so weit, dass das Niveau der Lösung mit dem Wasser gleich war. Es trat nun Wasser aus dem Gefässe in die Thonzelle und liess die Quecksilbersäule im Manometer ansteigen bis der hydrostatische Druck derselben dem weiteren Eindringen von Wasser ein Ziel setzte. Dieser am Manometer ablesbare hydrostatische Druck ist gleich dem osmotischen Druck der Lösung in der Zelle. Die relative Grösse und ursächlichen Verhältnisse des osmotischen Druckes werden erklärt und bestimmt durch das van't Hoff'sche Gesetz der Lösungen. „Gelöste Stoffe üben in der Lösung denselben Druck als osmotischen aus, welchen sie bei der gleichen Temperatur und im gleichen Volumen als Gase ausüben würden d. h. der osmotische Druck ist abhängig von der Anzahl der in der Lösung vorhandenen Moleküle.“

„Theorie der elektrolytischen Dissociation“ von Arrhenius[4]). Beim Auflösen eines Elektrolyten, d. i. eines Stoffes, dessen wässerige Lösung dem elektrischen Strom gegenüber sich wie ein Leiter verhält, in Wasser erfahren die Moleküle eine Spaltung — Dissociation. Die Spaltungsprodukte nennt man Jonen — Wanderer. So erfährt z. B. beim Auflösen von Kochsalz in Wasser ein Teil der Na Cl Moleküle eine Spaltung in die Jonen Na und Cl. Die Jonen Na sind mit positiver, die Jonen Cl sind mit negativer Elektrizität beladen. Durch die Spaltung wird die Zahl der in der Lösung befindlichen Moleküle vermehrt. Werden

nämlich m Moleküle Na Cl in Lösung gebracht, so dissociiert ein gewisser Bruchteil α der m Moleküle in seine n (in unserem Beispiel 2) Jonen. Die Lösung enthält dann α. m. n Jonen, ausserdem noch die nicht dissociierten Moleküle, das sind m — α. m Moleküle; im ganzen sind demnach in der Lösung $m - \alpha . m + \alpha . m n = m (1 + \alpha (n - 1)) = m_2$ Moleküle enthalten. Das Verhältnis von der Zahl, der wirklich in Lösung befindlichen Moleküle, also m_2, zu der Zahl der in Lösung gegebenen Moleküle m nennt man den Dissociationskoëfficienten und bezeichnet ihn mit i, also

$$i = \frac{m_2}{m} = \frac{m (1 + \alpha (n-1))}{m} = 1 + \alpha (n - 1).$$

Nachdem so von van't Hoff und Arrhenius die Gesetze des osmotischen Druckes theoretisch formuliert und dieselben durch exakte physikalische Versuche bestätigt waren, erwuchs für de Vries die Aufgabe, seine empirisch nach physiologischer Methode gefundenen Zahlen und daraus abgeleiteten Gesetze der isotonischen Koëfficienten retrospektiv auf Grund der neueren Anschauungen nochmals zu betrachten und zu vergleichen. de Vries[14]) [16]) fand in der That, dass seine isotonischen Koëfficienten in Wirklichkeit mit den Dissociationskoëfficienten identisch waren. Er rechnete dieselben in der Weise zu Dissociationskoëfficienten um, dass er zunächst den isotonischen Koëfficienten für einen nicht dissociierenden Stoff mittels seiner Methode z. B. für Harnstoff bestimmte. Er fand letzteren zu 1,70. Dann ergab die Division des bekannten isotonischen Koëfficienten des dissociierenden Stoffes, für den der Dissociationskoëfficient bestimmt werden sollte, mit dem isotonischen Koëfficienten des Harnstoffs den Dissociationskoëfficienten für den dissociierenden Stoff; also z. B. isot. Koëff. von K Cl = 3,08, isot. Koëff. des Harnstoffs = 1,70, also i von K Cl $= \frac{308}{1{,}70} = 1{,}81$.

In Tabelle 2 sind die Dissociationskoëfficienten für einige Stoffe enthalten, wie sie de Vries berechnet hat. Dieselben zeigten eine leidliche Übereinstimmung mit den nach physikalischen Methoden gefundenen, nur die der Chloride waren konstant zu klein, welcher Befund uns noch später beschäftigen wird.

Hieraus geht hervor, dass de Vries selbst sein Gesetz der isotonischen Koëfficienten fallen lässt, da dasselbe ja vollständiger in den Gesetzen des osmotischen Druckes zum Ausdruck kommt.

Tabelle 2.

	Konzentration in g Molek.	Isotonische Koëfficienten	Dissociations-koëfficienten
Harnstoff	0,26	1,70	1,00
$MgSO_4$	0,38	2,13	1,25
KCl	0,14	3,08	1,81
LiCl	0,13	3,26	1,92
NH_4Cl	0,148	3,10	1,82
$CaCl_2$	0,184	4,73	2,78
$MgCl_2$	0,19	4,24	2,79
S_2Cl_2	0,18	4,58	2,69
$Ca(NO_3)_2$	0,19	4,22	2,48
$Fe(CN)_6K_4$	0,089	5,26	3,09

Standen Hamburgers Beobachtungen an roten Blutkörperchen mit dem de Vries'schen Gesetz der isotonischen Koëfficienten im Einklange, so muss notwendigerweise auch Einklang mit den Gesetzen des osmotischen Druckes bestehen. Diesen Nachweis zu führen ist Zweck vorliegender Arbeit

und insofern von Bedeutung, als die Hamburger'sche Methode nur unter der Voraussetzung, dass der Hämoglobinaustritt, der Indikator derselben, eine Folge osmotischer Kräfte ist und genau den Gesetzen der Osmose gehorcht, Anspruch darauf machen kann, praktisch verwendet zu werden, wie dies Hamburger, v. Limbeck und andere, allerdings nur gestützt auf die isotonischen Koëfficienten de Vries, bereits unternahmen

1) zur Bestimmung des osmotischen Druckes des Serums und anderer physiologischer und pathologischer Flüssigkeiten und

2) zur Resistenzmessung der roten Blutkörperchen.

Diese beiden praktischen Anwendungen der Methode sollen zunächst kurz besprochen werden.

IV. Bestimmung des osmotischen Druckes des Serums und anderer physiologischer und pathologischer Flüssigkeiten durch die Hamburger'sche Methode.

Der von Hamburger[6]) angestellte Versuch ist folgender: Frisch aufgefangenes Rinderblut wurde in zwei Teile geteilt. Der eine Teil wurde zur Gerinnung sich selbst überlassen, der andere defibriniert. Von dem durch den Blutkuchen des ersten Teiles klar ausgepressten Serum wurden je 5 ccm mit je 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 Volumprocent destillierten Wassers versetzt. Zu jeder dieser Mischung wurden 0,5 ccm defibrinierten Blutes von Teil II zugesetzt, geschüttelt und zur Sedimentation sich selbst überlassen. Nach 24 Stunden hatten sich in dem mit 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 Volumprocent Wasser verdünnten Serum die Blutkörperchen in einer klaren ungefärbten Flüssigkeit gesenkt, während das mit 80, 90, 100 Volumprocent Wasser versetzte Serum rotgefärbt war. In letzteren Mischungen hatten also die Blutkörperchen Hämoglobin abgegeben.

Darauf wurden für dasselbe Blut die beiden Grenz- NaCl Lösungen aufgesucht, von denen die eine rot gefärbt, die andere ungefärbt war. Diese beiden Lösungen waren also den mit 80 und 70 Volumprocent Wasser verdünnten Serummischungen an die Seite zu stellen, von denen die eine ebenfalls rot, die andere ungefärbt war. Das Mittel von den beiden NaCl-Lösungen, welches sich z. B. auf eine 0,64 % Lösung stellte, entsprach also dem Mittel der beiden Serummischungen von 75 Volumprocent Wasserzusatz. Sie haben gleichen osmotischen Druck, und es lässt sich der osmotische Druck des unveränderten Serum wie folgt berechnen:

100 ccm des mit 75 Volumprocent Wasser verdünnten Serums haben einen osmotischen Druck, als wenn darin gelöst wäre 0,64 g NaCl

1 „ „ „ $\frac{0,64}{100}$ „ „

175 „ „ „ $\frac{0,64 . 175}{100}$ „ „ $= 1,12$

Da die zugesetzten 75 Volumprocent Wasser kein Salz enthalten, so kommt also der Salzwert 1,12 nur auf die 100 ccm ursprünglichen Serums d. h. dasselbe hat einen osmotischen Druck, der einer 1,12 % NaCl-Lösung entspricht.

Hamburger hat diese Methode zur Untersuchung von Serum, Lymphe und hydropischen Flüssigkeiten sehr häufig praktisch angewandt. Auch v. Limbeck[7]) untersuchte mittelst derselben das Blut eines Hundes während des Verblutungstodes von drei hintereinander entnommenen Portionen, und er fand den osmotischen Druck des Serums der ersten Portion zu 0,904, der zweiten zu 0,896, der dritten zu 0,908 % NaCl.

H. Adler[7]) untersuchte auf v. Limbeck's Anregung das Serum bei verschiedenen Krankheiten. Er fand bei

Neurasthenie	den	osmotischen	Druck	des Serums	= 0,817%	NaCl
Hemiplegie	„	„	„	„	= 0,85 %	„
Hysterie	„	„	„	„	= 0,82 %	„
Neurosis traum.	„	„	„	„	= 0,94 %	„
Hysterie	„	„	„	„	= 0,92 %	„
Pleuritis	„	„	„	„	= 0,94 %	„
Pneumonie	„	„	„	„	= 0,87 %	„
Pericarditis	„	„	„	„	= 0,84 %	„
Erysipelas faciei	„	„	„	„	= 0,96 %	„
Icterus catarrh.	„	„	„	„	= 0,805%	„

In Bezug auf die praktisch-klinische Verwendbarkeit dieser Methode zur Bestimmung des osmotischen Druckes wenigstens des Blutserums ist hervorzuheben, dass dieselbe, wie es schon v. Limbeck[7]) betont, wohl kaum Bedeutung erlangen wird, weil zwei Umstände störend einwirken, nämlich die Länge der Zeit, 24 Stunden, die ein Versuch in Anspruch nimmt, dann die Menge des erforderlichen Blutes. Ein Versuch, wie der oben beschriebene erfordert 50 ccm Serum, also ungefähr 100 ccm Blut. Kleinere Mengen, als 5 ccm Serum pro Reagensglas zu nehmen, ist deshalb nicht angängig, weil dann die Versuchsfehler zu gross werden würden. Ferner sind Flüssigkeiten, die eine, wenn auch nur geringe rote Nuance haben, für eine derartige Untersuchung nicht tauglich, was ebenfalls die Verwendung der Methode bedeutend einschränkt.

V. Resistenzmessung der roten Blutkörperchen durch die Hamburger'sche Methode.

Als beste der bisher bekannten Methoden zur Resistenzmessung der roten Blutkörperchen hat sich die Hamburger-'sche erwiesen, welche auf folgendem Princip beruht. Sind die Blutkörperchen in irgend einer Weise krankhaft alteriert, so werden dieselben bei der Prüfung durch die Hamburgersche Methode dem eindringenden Wasser, das sie zu sprengen

sucht, keinen so grossen Widerstand entgegensetzen können, als unter normalen Verhältnissen; und sie werden ihr Hämoglobin eher abgeben. Grössere Resistenz der Blutkörperchen wird sich also dokumentieren durch Abgabe von Hämoglobin an eine niedere, geringere Resistenz durch Abgabe von Hämoglobin an eine höhere Salzkonzentration. v. Limbeck und andere haben die Methode zur Resistenzmessung bei den verschiedensten Krankheiten angewendet. Ich gebe eine solche Versuchsreihe v. Limbeck's [7]) in Tabelle 3 wieder.

Tabelle 3.

	Krankheit	Resistenz in NaCl	Mittelwerte	Zahl der untersuchten Fälle
Fieberhafte Infektionskrankheiten	Pneumonia crouposa	0,46—0,58	0,5	6
	Typh. abdom.	0,42—0,54	0,49	6
	Erysipelas	0,44—0,58	0,5	5
	Meningitis tuberc.	0,42	0,42	1
	Influenza	0,42	0,42	2
	Abscess. hepat.	0,46	0,46	1
Allgemeine Ernährungsstörungen	Diabetes mell.	0,44—0,5	0,46	3
	Osteomalacie	0,46	0,46	2
	Leucaemia lien.	0,52	0,52	1
	Purpura haem.	0,43—0,56	0,5	4
	Icterus catarrh.	0,38—0,42	0,39	15
	Icterus aus Sepsis	0,38	0,38	1
Organkrank.	Lebercirrhose ohne Icterus	0,46	0,46	2
	Nephritis chronica	0,44—0,46	0,45	2
Anaemie.	Anaemia gravis	0,52—0,54	0,53	2
	Chlorosis	0,38—0,4	0,39	2

Bei der Anwendung der Methode in diesem Sinne ist aber wohl zu beachten, dass keine absoluten Werte in Betreff der Resistenz erhalten werden, denn der Hämoglobin-Austritt bei dieser Anwendung, der Indikator der Resistenz, ist von zwei Faktoren abhängig, nicht allein von der jeweiligen Resistenz, sondern ebenso von dem Salzgehalt der Blutkörperchen, welcher in ziemlich weiten Grenzen sich bewegt. Von zwei Blutkörperchen von gleicher Resistenz aber verschiedenem Salzgehalt wird das eine, mit hohem Salzgehalt infolge der osmotischen Gesetze schon in einer höheren Konzentration genügend Wasser aufgenommen haben, platzen und sein Hämoglobin abgeben, als das mit geringerem Salzgehalt. Ersteres kann dadurch eine geringere Resistenz vortäuschen und umgekehrt. Wollte man durch die Hamburger'sche Methode absolute Werte für die Resistenz der Blutkörperchen haben, so müsste man also bei jeder Untersuchung auf die Resistenz auch den jedesmaligen Salzgehalt der Blutkörperchen resp. des Serums mitbestimmen, um prüfen zu können, welcher Anteil am Hämoglobinaustritt jedem der beiden Faktoren, welche denselben zusammen bewirken, zukommt. Immerhin giebt der Vergleich mit der Resistenz der normalen Blutkörperchen (beim Menschen von v. Limbeck zu 0,44—0,48% NaCl bestimmt) Anhaltspunkte, um Schlüsse auf die Resistenz ziehen zu können.

VI. Einige technische Bemerkungen zu dieser Methode.

Bevor ich zu der Besprechung meiner mit der Methode erhaltenen Resultate gehe, schicke ich einige technische Bemerkungen voraus, die mir der Mitteilung wert scheinen. Es werden in Betreff des

a) Blutquantums, welches man zu den Lösungen zusetzen soll,

von fast allen Autoren, die Versuche mit der Hamburgerschen Methode anstellten, verschiedene Angaben gemacht.

Hamburger[5]) setzte zu 20 ccm Lösung anfangs 2 ccm Blut (Verdünnung 1 : 10); später nahm er auf dasselbe Quantum Lösung 0,5 ccm Blut (Verdünnung 1 : 40). Die letztere Verdünnung nahm auch v. Limbeck zu seinen Versuchen, empfiehlt aber, einen tropfenweisen Zusatz zu versuchen, was von einigen italienischen Autoren schon mit Erfolg versucht war. Mosso[18]) und nach ihm Gallerani[19]) setzen zu 20 cmm etwa $^1/_2$ Tropfen Blut (Verdünnung 1 : 1000). Viola[17]) behauptet, letztere Menge sei gering, besonders in Fällen starker Oligämie und setzt in seinen Versuchen 2—3 Tropfen zu 20 ccm Lösung (Verdünnung von 1 : 250—160). Da die Methode gewinnt, wenn ein tropfenweiser Zusatz zu den Lösungen gestattet ist, ohne dass dadurch die Exaktheit der Resultate leidet, so suchte ich dies festzustellen und versuchte mit je 1, 2, 3, 4, 5, 6 Tropfen Blut zu ca. 6,5 ccm Lösung (Verdünnung 1 : 160, 1 : 80, 1 : 50, 1 : 40, 1 : 30, 1 : 25). Selbst bei Zusatz von einem Tropfen (1 : 160) war die Grenze des Hämoglobinaustrittes genau festzustellen und bei Zusatz von 1, 2, 3 Tropfen ungleich schärfer, als bei Zusatz von 4, 5, 6 Tropfen, was vielleicht darauf zurückzuführen ist, dass bei dieser Tropfenzahl die Menge des mitzugesetzten Serums schon imstande ist, den Lösungen eine leicht gelbe Nuance zu geben. Bei so geringem Konzentrationsunterschied der einzelnen Lösungen, wie sie in den späteren Versuchen gebraucht wurden (0,029% NaCl), welcher aber erforderlich ist, um genügend genaue Resultate zu erhalten, findet der Übergang von der vollständigen Lösung aller Blutkörperchen ganz allmählich statt. Derselbe nimmt 5—7 aufeinanderfolgende Lösungen in Anspruch. Die Lösungen zeigen mit zunehmender Konzentration die Farben rot, ohne Blutkörperchensediment am Boden, rot (etwas schwächer), mit etwas Sediment rötlich, rötlich (etwas schwächer), gelb, gelb (etwas schwächer) klar mit wachsender Menge des Sediments. Dieses Versuchsbild hatte sich bei Zusatz von 6 Tropfen

gegenüber den parallelen Lösungen mit je 1, 2, 3 Tropfen Blut, um eine Lösung nach den stärkeren Konzentrationen zu verschoben. Bei einer derartigen Menge Blut waren also Blutkörperchen geringster Resistenz in genügender Zahl vorhanden gewesen, um durch ihren Zerfall eine weitere Lösung zu färben. Daraus erwächst die Notwendigkeit, den Blutzusatz bei derartig geringen Mengen auf 3 Tropfen genau zu regeln, wenn wir Vergleichswerte erzielen wollen.

Manchmal ist es schwierig zu entscheiden, ob die abgesetzte Flüssigkeit noch als gelb oder als klar zu bezeichnen ist. Ich konnte diese Frage mit Sicherheit beantworten, wenn ich die betreffende Lösung neben einer unzweifelhaft klaren gegen einen hellen Hintergrund z. B. ein Blatt weisses Papier, oder am besten am Fenster gegen den Horizont oder eine helle Wolke hielt. W. Löb[8]) empfiehlt dieselbe gegen blaues Papier zu halten, da dann eine gelbe Färbung der Lösung mit dem Blau des Papiers eine deutliche Grünfärbung erzeugt, während eine klare Lösung das Blau des Papiers unverändert wiedergiebt.

b) Einfluss der Zeit.

Da bei Verwendung von Reagensgläsern mit einer Weite des Lumens von ungefähr 1 cm sich schon nach Verlauf von 2 Stunden eine klare, je nach der Konzentration gefärbte oder ungefärbte Flüssigkeitssäule von ca. 0,75 cm Höhe abgesetzt hatte, welche mit Sicherheit zu entscheiden gestattete, ob die Lösung gefärbt oder ungefärbt war, so war es mir auffällig, dass Hamburger und mit ihm die oben citierten italienischen Autoren erst 24 Stunden, v. Limbeck 12 Stunden warteten, ehe sie die Resultate notierten. Wird in dieser Zeit Hämoglobinaustritt in einer weiteren Lösung, also stärkeren Konzentration, beobachtet, so ist ein derartiges Warten gerechtfertigt. Für defibriniertes Blut konnte ich mit Sicherheit nachweisen, dass dies nicht der

Fall ist. In allen angestellten Versuchen hatten alle Lösungen, welche nach 2 Stunden farblos gefunden wurden auch nach 24 Stunden niemals den geringsten Hämoglobinaustritt bewirkt. Dieser Befund berechtigte mich, die Resultate schon nach 2 Stunden zu notieren*).

Gryns äussert sich in Beziehung auf diesen Punkt im gegenteiligen Sinne und sagt im Arch. f. die ges. Phys. 1896, Pag. 97:

„Meine Erfahrungen über die Brauchbarkeit der Hamburger'schen Methode ist wenig zufriedenstellend; namentlich erwiesen sich die Resultate abhängig von der Zeitdauer, nach welcher die Beobachtungen über den Austritt des Blutfarbstoffes angestellt wurden. Ich möchte mir das folgendermassen erklären: werden Blutkörperchen in ein fremdes Medium übertragen, so ist es mindestens zweifelhaft ob sie darin ebenso intakt sich erhalten, als in ihrem natürlichen Element (Bakterieneinwirkung ausgeschlossen). Die Voraussetzung, auf welcher gesagte Methode beruht, dass nämlich jene verdünnte Salzlösung, in welcher die Blutzellen nach längerer Zeit eben im Begriff sind ihren Farbstoff abzugeben, mit dem entsprechend verdünnten Serum isotonisch sei, erscheint demnach nicht unanfechtbar. Vielmehr wäre anzunehmen, dass der Hämoglobinaustritt in die Lösung bei einer weniger erniedrigten, osmotischen Spannung, als in das Serum, stattfinden, und dass auch die Dauer des Versuchs auf diese Differenz von Einfluss sein wird."

Es ist bekannt, dass die Blutkörperchen trotz Sterilisation in ihrem eigenen Serum nach Tagen sich lösen. Auch in Salzlösungen werden dieselben mit der Zeit so geschädigt, dass sie sich lösen. 36 Stunden bleiben sie aber auch in entsprechenden Salzlösungen intakt, was zu konstatieren ich häufig Gelegenheit hatte.

---

*) In der neuesten Arbeit Hamburger's lässt auch er eine Ablesung schon nach 2 bis 3 Stunden zu.

Bei Versuchen mit nicht defibriniertem Blute ist die bald nach Anstellung des Versuches eintretende Fibringerinnung, welche sich in Form wolkiger Trübung in den Lösungen kundgiebt und das vollständige Sedimentieren der roten Blutkörperchen oft hindert, ein störendes Moment. Es konnte die Grenze zwischen gefärbten und ungefärbten Lösungen mit Sicherheit erst nach viel längerer Zeit (etwa nach 4 Stunden) aufgefunden werden. Auch schien es, als ob anfangs klare Lösungen später eine leicht gelbe Farbe angenommen hatten. Vielleicht ist diese Erscheinung darauf zurückzuführen, dass das vorhandene Fibrin, welches die Blutkörperchen einschliesst, ein Hindernis abgiebt, dass die Salzlösungen sofort ihre volle Wirkung entfalten können. Nach Verlauf einer längeren Zeit, etwa nach 12 Stunden, wurde eine derartige Farbenveränderung der Lösungen nicht mehr wahrgenommen. Es ist demnach notwendig bei Versuchen mit nicht defibriniertem Blut diese Zeit zu warten, um genaue Resultate zu erhalten.

c) Herstellung der Lösungen.

Die erforderlichen Lösungen ca. 13—18 von jedem verwendeten Stoff wurden folgendermassen hergestellt. Zunächst wurde eine Teilnormallösung des betreffenden Stoffes bereitet, indem das Salz (ein Bruchteil des Molekulargewichtes) in einen graduierten Cylinder gethan und dann bis zur Marke „1000 ccm“ destilliertes Wasser zugesetzt wurde. Letzteres wurde vorher bis zum Sieden erhitzt, um die absorbierten Gase, vor allem CO_2, auszutreiben, und um die in Rohrzuckerlösungen sonst eintretende lästige Pilzbildung zu verhindern. Von dieser Teilnormallösung wurde dann, um die einzelnen Lösungen zu erhalten, ein solches Quantum genommen, dass der Zusatz von destilliertem Wasser wiederum im graduierten Cylinder bis zur Marke „100 ccm“ die gesuchte Konzentration ergab. Von NaCl wurde z. B. eine $^1/_5$ Normallösung (d. h. $\frac{58{,}5}{5} = 11{,}7$ g NaCl wurden mittelst

destillierten Wassers zu 1000 ccm Lösung ergänzt) hergestellt.

In 1000 ccm dieser $^1/_5$ Normallösung NaCl waren also 0,2 g Mol. enthalten, in 1 ccm dieser $^1/_5$ Normallösung NaCl waren also 0,0002 g Mol. enthalten. Sollte nun z. B. eine NaCl Lösung von 0,07 g Mol. hergestellt werden, so ergab folgende Gleichung die erforderliche Menge der Teilnormallösung:

$$0{,}0002\ X = 0{,}07$$
$$X = 350.$$

Es mussten also in diesem Falle 350 ccm $^1/_5$ Normallösung NaCl zu 1000 ccm Lösung, oder, wenn nur 100 ccm Lösung bereitet werden sollten, 35 ccm $^1/_5$ Normallösung zu 100 ccm Lösung ergänzt werden. Auf diese Weise wurden von den verwendeten Stoffen Reihen von je 13—18 verschiedener Konzentrationen zu je 100 ccm hergestellt, welches Quantum zu ca. 15 Versuchen ausreichte. Da die einzelnen Lösungen der Reihen in Bezug auf ihre osmotische Wirkung ungefähr korrespondieren mussten, so war es erforderlich, dass, da die meisten der verwandten Stoffe dissociieren und nach der Lehre vom osmotischen Druck für die osmotische Wirkung nur die betreffende Anzahl vorhandener, nicht gelöster Moleküle, heranzuziehen ist, die Differenzen zwischen den einzelnen Lösungen nach diesem Gesichtspunkte festgelegt wurden. Als Differenz konnte also nur das Produkt aus der Anzahl gelöster Moleküle und dem Dissociationskoëfficienten genommen werden und sie wurde auf ca. 0,01 Moleküle normiert, was in Grammen Differenzen von 0,02925 % NaCl, 0,03725 % KCl, 0,071 % Na_2SO_4, 0,087 % K_2SO_4, 0,4275 % Rohrzucker bedeutet. Hamburger und v. Limbeck konnten mit der Methode Unterschiede von 0,01 % NaCl feststellen. Will man derartige Feinheiten konstatieren, worauf es bei den späteren Versuchen weniger ankam, so wird die Handhabung der Methode etwas umständlich. Es wären in diesem Falle zu unseren Versuchen die doppelte

Anzahl Lösungen nötig gewesen. Aus diesem Grunde wurde die obige etwas grössere Konzentrationsdifferenz genommen.

In Tabelle IV sind die für die Herstellung der Lösungen der Stoffe in Betracht kommenden Zahlenangaben enthalten. Die daselbst in Rechnung gebrachten Dissociationskoëfficienten der Stoffe für die beigefügte Konzentration sind die von Raoult und Arrhenius nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung gefundenen. Da die Dissociation mit steigender Verdünnung zunimmt, so hätte der Dissociationskoëfficient eigentlich für jede einzelne Lösung bestimmt und in Rechnung gebracht werden müssen. In der Weite aber, in der die betreffende Lösungsreihe sich bewegt (0,06 und 0,08 g Mol.), ist die Zunahme der Moleküle durch elektrolytische Dissociation so unbedeutend, dass sie zu vernachlässigen ist.

Tabelle 4.

Stoffe	Teilnormallösung	Molekulargewicht	In 1000 ccm Teilnormallösung sind also enthalten g	Gramm-Moleküle pro Mille der Teilnormallösung	Anzahl hergestellter Lösungen	Schwächste-stärkste Konzentrationen		Differenz zwischen je 2 aufeinander folgenden Lösungen		Dissociationskoëfficient (i) nach:	Nebenstehendes i gilt für Konzentrationen von g Mol. pro Liter	Differenz des osm. Drucks zwischen je 2 aufeinander folgenden Lösungen
						g Mol.	%	g Mol.	%			
NaCl	1/5	58,5	11,7	0,2	17	0,07—0,15	0,4095—0,8825	0,005	0,02925	Raoult 1,9	0,153	0,0095
KCl	1/5	74,5	14,9	0,2	18	0,07-0,155	0,5215—1,15475	0,005	0,03725	Raoult 1,82	0,149	0,0091
Na_2SO_4	1/10	142	14,2	0,1	13	0,04—0,1	0,568 —1,42	0,005	0,0[illegible]71	Arrhenius 2,35	0,090	0,01175
K_2SO_4	1/10	174	17,4	0,1	13	0,04—0,1	0,696 —1,74	0,005	0,087	Arrhenius 2,35	0,091	0,01175
Rohrzucker	1/4	342	85,5	0,25	13	0,1—0,25	3,42 —8,55	0,0125	0,4275	1		0,0125

VII. Verhalten der roten Blutscheiben bei Anwendung von Hamburger's Methode.

Bringen wir Blutkörperchen in die Salzlösungen, so können wir je nach der Konzentration ein verschiedenes Verhalten der Blutkörperchen in denselben beobachten. Es sind folgende 3 Konzentrationsgruppen besonders bemerkenswert:

1) die Lösung (1) hat einen höheren Salzgehalt als das Serum resp. der Zellinhalt der Blutkörperchen,
2) die Lösung (2) hat den gleichen Salzgehalt als das Serum resp. die Blutkörperchen,
3) die Lösung (3) hat einen geringeren Salzgehalt als das Serum resp. die Blutkörperchen.

Das Verhalten der Blutkörperchen in diesen Lösungen findet unter Zuhülfenahme der Osmoselehre folgende Erklärung:

1) Die Lösung 1 übt infolge ihres höheren Salzgehaltes einen höheren osmotischen Druck auf die Oberfläche des Blutkörperchens aus, als von dem Inhalt des Blutkörperchens, wegen seines geringeren Salzgehaltes geleistet werden kann. Das Blutkörperchen wird also zusammengepresst. Die Folge ist Wasserabgabe und Schrumpfung seitens des Blutkörperchens. Die Lösung bleibt ungefärbt.

2) Die Lösung 2 übt denselben Druck von aussen auf das Blutkörperchen aus, als der Inhalt von innen. Es besteht also Gleichgewicht innen und aussen. Die Blutkörperchen werden also in dieser Lösung denselben Wassergehalt und dasselbe Volumen behalten, welches sie in ihrem Serum hatten. Die Lösung bleibt ungefärbt.

3) In der Lösung 3 ist der Druck auf die äussere Oberfläche des Blutkörperchens geringer als der Innendruck. Dieser grössere Innendruck des Blutkörperchens bewirkt Aufblähung und als Folge davon Wasseraufnahme seitens des Blutkörperchens so lange, bis der Druck aussen und innen

gleich ist. Diesem Quellen des Blutkörperchens sind aber bestimmte Grenzen gesetzt, da seine Elasticität eben nur eine begrenzte ist. Das Blutkörperchen kann, wenn der Druck aussen sehr gering ist, das Quantum Wasser nicht fassen, welches es aufnehmen müsste, um den Druckunterschied zwischen innen und aussen auszugleichen. Es platzt, wobei es sein Hämoglobin an die Lösung abgiebt. Die Lösung wird rot gefärbt.

Die Hamburger'sche Blutkörperchen-Methode sucht nun die beiden Lösungen auf, welche an der Grenze des Hämoglobinaustrittes stehen, von denen also die eine infolge des Hämoglobinaustrittes aus den Blutkörperchen rot gefärbt, die andere ungefärbt ist, da sie keinen Hämoglobinaustritt bewirkt hat. Letztere Lösung soll in Folgendem „Testlösung" genannt werden.

Hier möchte ich an eine Bemerkung v. Limbeck's einige Worte knüpfen. Derselbe sagt in seiner „klinisch. Pathol. des Blutes" 1896, Pag. 162: „Wenn sich Hamburger und mit ihm Koeppe nach wie vor auf den Standpunkt stellt, in dem endlichen Austritt des Blutfarbstoffes aus den Erythrocyten eine osmotische d. h. nach rein physikalischen Gesetzen verlaufende Erscheinung zu sehen, so führt der Erstere u. a. selbst Thatsachen an, welche ihm selbst nur schwer, mir kaum mit dieser Auffassung vereinbar erscheinen. Vor allem ist dies die von ihm selbst konstatierte Thatsache der Konstanz der Isotonie" (unter isotonischen Lösungen versteht hier v. Limbeck diejenigen, welche die Grenze des Hämoglobinaustrittes angeben) „der roten Blutkörperchen, sei es, dass dieselben in stark oder schwach hypertonischem Medium sich befunden haben."

Letztere Behauptung stützt er durch folgende Versuche: „Die Hypertonie" (das ist in diesem Falle die Konzentration der Lösung, welche mit dem Serum gleichen osmotischen Druck hat) „des Serums von Pferdeblut wurde in verschiedenen Portionen durch Zusatz von 4proc. NaCl-Lösung,

sowie durch Überschichtung des klar sedimentierten Serums mit Wasser (auf 100 ccm Blut 10 ccm NaCl-Lösung resp. Wasser) willkürlich von dem ursprünglichen Wert 1,008 Proc. NaCl auf 1,3664 resp. 0,873 Proc. NaCl gesteigert resp. verringert. Die Isotonie der in den betreffenden 3 Flüssigkeiten eingeschlossenen Blutkörperchen war trotz der verschiedenen Hypertonie des sie umschliessenden Mediums constant 0,56% NaCl."

v. Limbeck bringt also

1) die Blutkörperchen durch Zusatz einer 4% NaCl-Lösung zum Serum in ein künstliches Serum, welches den osmotischen Druck 1,3664% NaCl hat,
2) bringt er dieselben durch Wasserzusatz zum Serum in ein künstliches Serum, welches den osmotischen Druck 0,87% NaCl hat,
3) das ursprüngliche Serum hat den osmotischen Druck 1,008% NaCl.

v. Limbeck findet es nun auffällig, dass die Blutkörperchen, sowohl die, welche in 1, 2 als auch diejenigen, welche in ihrem eigenen Serum verweilt haben, doch alle in derselben Lösung, nämlich in 0,56% NaCl ihr Hämoglobin abgeben.

Fragen wir uns nun, was ist mit den Blutkörperchen geschehen, während der Zeit, wo sie in 1 und 2 verweilten!

1) diejenigen, welche in 1 verweilten gaben Wasser ab und schrumpften,

2) die in 2 nahmen Wasser auf und quollen. Sonstige Veränderungen, ausser in dem Gehalt an Wasser sind mit den Blutkörperchen aber nicht vorgegangen.

Verdünnen wir nun das Serum der Blutkörperchen 1, so werden sie den Wasserverlust ersetzen. Ist das Serum 1 bis auf den osmotischen Druck von 1,008% NaCl verdünnt, so werden die Blutkörperchen jetzt wiederum denselben Wassergehalt und dasselbe Volumen haben, wie in ihrem ursprünglichen Serum.

Setzten wir jetzt weiter zu 1 und auch zu 3 soviel Wasser zu, dass dieselben einen osmotischen Druck von 0,873% NaCl bekommen, so werden die Blutkörperchen 1, 2, 3 so viel Wasser ansaugen, dass Wassergehalt und Volumen von allen dreien gleich ist.

Bei weiterem Zusatz von Wasser werden die Blutkörperchen in allen 3 Medien bei gleichem Zusatz in gleichem Masse quellen und, da ihre Resistenz gleich ist, in derselben Lösung, wie v. Limbeck im obigen Versuch fand, bei 0,56% NaCl ihr Hämoglobin abgeben.

Der Befund, dass die Blutkörperchen, welche in verschieden konzentrierten Medien verweilten, trotzdem alle in derselben Lösung ihr Hämoglobin abgeben, kann demnach nicht auffällig erscheinen, und es steht nicht nur vollständig im Einklang mit der physikalischen Vorstellung, sondern wir müssen ein derartiges Verhalten fordern, wenn anders der Hämoglobinaustritt eine Folge rein physikalischer Vorgänge sein soll.

Nur in dem Falle würden die Blutkörperchen, die in beliebig konzentrierten Medien verweilt haben, in einer anderen Lösung ihr Hämoglobin abgeben, als die ursprünglichen, wenn erstere, während sie in derartigen Salzlösungen verweilten, Salz aus der Lösung aufgenommen, oder an dieselbe abgegeben hätten.

Hamburger[15]) glaubte einen derartigen Austausch für erwiesen auf Grund folgender Versuche.

Versuch I. Er versetzte Blut mit einer Salzlösung z. B. $NaNO_3$. Wenn er diese Blut-Salzmischung centrifugierte, so hatte das Serum des so behandelten Blutes einen bedeutend höheren Chlorgehalt, als das ursprüngliche Serum. Es mussten die Blutkörperchen also Chloride an das Serum abgegeben haben.

Versuch II. Setzte er NaCl zu dem Blute, so verschwand umgekehrt Chlor aus dem Serum in die Blutkörperchen. Da die so behandelten Blutkörperchen nach beiden

Versuchen bei der Probe durch die Hamburger'sche Methode in derselben Salzlösung Hämoglobin abgaben, wie diejenigen, welche nur im eigenen Serum verweilt hatten, so schloss Hamburger, dass andere Stoffe den umgekehrten Weg genommen hätten, um die entstandene Konzentrationsdifferenz wieder auszugleichen. Es hatte, wie Hamburger sich ausdrückte, ein Austausch „im isotonischen Verhältnis" stattgefunden.

Gryns[2]) hat die etwas komplicierte Rechnung, die bei obigen Versuchen nötig war, kontrolliert und gefunden, dass, wenn der von Hamburger gefundene Chlorgehalt des Serums bei den beiden Versuchen richtig war, im ersten Versuch die Blutkörperchen mehr Chlor abgegeben haben mussten, als sie in ihrer Gesammtheit enthalten konnten, dass sie im Versuch II mehr Chlor aufgenommen hatten, als einer isotonischen Lösung entsprach, was beides unmöglich ist.

Damit ist der „Permeabilität" der Blutkörperchen, d. i. der Aufnahme und Abgabe von Salzen beim Verweilen in Lösungen derselben, welche Hamburger durch obige Versuche stützte, der Boden entzogen, da diese Versuche eben nicht einwandsfrei sind.

Aus eben diesem Grunde kann bei dem obigen Versuch v. Limbeck's (pag. 52) eine Veränderung des osmotischen Druckes der Blutkörperchen, die einen Übertritt von ungleichen Salzmengen in die Blutkörperchen, die in verschieden hoch konzentrierten künstlichen Seren verweilt hatten, voraussetzte, nicht in Betracht kommen, und wir sind berechtigt anzunehmen, dass unter den obigen Verhältnissen kein Salz übertritt.

Dass nun aber doch, allerdings unter gewissen anderen Umständen, Chlor in die Blutkörperchen eintreten kann, ist von verschiedenen Seiten nachgewiesen worden und es wird dieser Punkt uns noch später beschäftigen.

VIII. Welche Salze können zu der Methode verwendet werden?

Soll ein osmotischer Vorgang, wie er oben beschrieben ist, überhaupt möglich sein, so muss bei den angewandten Salzen die Bedingung erfüllt sein, dass dieselben nicht in die Blutkörperchen eintreten können. Es giebt eine ganze Anzahl Salze, welche eintreten können. Setzen wir ein derartiges Salz in Substanz in nicht zu grossen Mengen dem Blute zu, so werden, da dasselbe nach erfolgter Lösung in die Blutkörperchen eintreten kann, Serum und Blutkörperchen eine gleiche Konzentrationsänderung erfahren. Der osmotische Druck beider wird in gleichem Masse verändert werden und damit alles im Gleichgewicht bleiben. Setzen wir diese Salze aber in Lösung zu, dann kommt das gelöste Salz nicht in Betracht, da es den osmotischen Druck des Serums und der Blutkörperchen in gleichem Sinne ändert. Das mit dem Salz aber gleichzeitig zugesetzte Lösungsmittel bewirkt Verdünnung des Serums; der osmotische Druck desselben wird also geringer. Der jetzt grössere osmotische Innendruck der Blutkörperchen wird dieselben auftreiben und dadurch Wasseraufnahme veranlassen, welche bei Zusatz genügender Mengen derartiger Lösungen so gross sein kann, dass die Blutkörperchen ihr Hämoglobin abgeben. Diese Salze an sich sind also wegen ihres Eintretens in die Blutkörperchen nicht imstande, einen osmotischen Druckunterschied zwischen Serum und Blutkörperchen herbeizuführen und deshalb unbrauchbar.

Gryns[2]) hat eine ganze Reihe von Stoffen auf diese Eigenschaft hin geprüft. Ich führe einige dieser Salze hier auf.

Es treten durch z. B.:

Ammoniumfluorid	NH_4Fl,
„ -chlorid	NH_4Cl,
„ -jodid	NH_4J,

Ammoniumborat	$NH_4B_2O_3$,
Methylalkohol	CH_3OH,
Aethylalkohol	C_2H_5OH,
Glycerin	C_3H_5OH,
Aethyläther	$(C_2H_5)_2O$,

Es treten nicht durch:

Ammoniumnitrat	NH_4NO_3,
„ -sulfat	$(NH_4)_2SO_4$,
„ -phosphat	$(NH_4)_3PO_4$,

Alle Metallsalze, NB. die welche von lebenden Zellen ohne Nachteil ertragen werden

Traubenzucker	$C_6H_{12}O_6$,
Rohrzucker	$C_{12}H_{22}O_{11}$.

Also alle Salze mit einem Metall-Jon treten nicht durch. Ferner folgt aus dem Verhalten der Ammoniumsalze, welche teils durchtreten, teils nicht, dass ein Stoff nicht durchtritt, wenn auch nur eines seiner Jonen nicht durchtreten kann. Will man eine Säure oder Base auf diese Eigenschaft hin prüfen, so braucht man nach Gryns nur Säuren mit NH_3, Basen mit dem Halogen zu binden, da die letzteren, was aus ihrem Verhalten in Bindung mit NH_3 folgt permeabel sind. Ferner sind alle Stoffe für die Methode unbrauchbar, welche das Eiweiss verändern und auch diejenigen, welche eine Giftwirkung gegenüber dem Blutkörperchen entfalten und dann immer Hämoglobinaustritt veranlassen (Amylnitrit, Ammoniumamylat, Inosit?).

Die Zahl der Stoffe, welche zu der Hamburger'schen Methode Verwendung finden können, ist also, obwol eine Anzahl aus den angegebenen Gründen unbrauchbar ist, nicht klein. Ich habe bei meinen Versuchen NaCl, KCl, Na_2SO_4, K_2SO_4 und Rohrzucker genommen: NaCl und KCl mit durchgängigem Säure-Jon, Na_2SO_4 und K_2SO_4 mit undurchgängigem Säure-Jon, welche 4 Salze sämtlich dissociieren, dann den organischen und infolgedessen nicht dissociierenden Rohrzucker.

IX. Prüfung der erhaltenen Versuchsresultate in der angegebenen Richtung.

a) Haben die Testlösungen unter gleichen Bedingungen gleichen osmotischen Druck?

Soll die Gültigkeit der Gesetze des osmotischen Druckes auch für die Hamburger'sche Methode nachgewiesen werden, so müssen wir vor allem zwei Forderungen stellen.

1. Bei Verwendung desselben Salzes und desselben Blutes zu der Methode muss die Testlösung immer die gleiche Konzentration haben.

2. Bei Verwendung verschiedener Stoffe, aber desselben Blutes müssen die Testlösungen den gleichen osmotischen Druck haben.

Um mir zunächst über den ersten Punkt Aufklärung zu verschaffen, wurden Parallelversuche mit demselben Salz und demselben Blut angestellt. Der Versuch wurde mit jedem der verwendeten Salze angestellt und einige Male wiederholt. Das Resultat war, dass in den Parallelversuchen immer gleich konzentrierte Lösungen als Testlösungen aufgefunden wurden. Die Methode erwies sich in dieser Beziehung als sehr sicher.

Bei Prüfung der Methode auf die zweite zustellende Forderung, werde ich die Versuche mit defibriniertem und nicht defibriniertem Blut gesondert besprechen.

Defibriniertes Blut konnte stets frisch vom hiesigen Schlachthofe bezogen werden. Dasselbe wurde koliert und vermittelst einer Pipette in die mit den Lösungen gefüllten Reagensgläser übertragen. Nach genügendem Stehen wurde die Testlösung notiert. Dieselbe ist also, um dieses noch einmal hervorzuheben, für die betreffenden Blutkörperchen die schwächste Konzentration, in der dieselben ihr Hämoglobin noch festzuhalten vermögen.

In Tabelle 5 sind die Testlösungen, wie sie bei diesen Versuchen gefunden wurden, enthalten. Die Konzentration derselben ist in Gewichtsmolekülen und Prozenten angegeben. Ferner ist bei jeder Testlösung, auch die Anzahl wirklich vorhandener Moleküle, also dissociierter und nicht dissociierter zusammengenommen, berechnet und mit verzeichnet, d. h. das Produkt aus der Anzahl gelöster Moleküle und dem Dissociationskoëfficienten der betreffenden Lösung (von Raoult und Arrhenius berechnet und in Taballe 3 enthalten). Letzterer Wert zeigt uns also die Grösse des osmotischen Druckes der betreffenden Lösung an und kommt somit bei den folgenden Betrachtungen fast ausschliesslich in Betracht.

Tabelle 5.

Defibriniertes mit Luft geschütteltes Blut von	NaCl-Testlösung			KCl-Testlösung			Na_2SO_4-Testlösung			K_2SO_4-Testlösung			Rohrzucker-Testlösung	
	g Mol.	osm. Dr. = g Mol. × i	%	g Mol.	osm. Dr. = g Mol. × i	%	g Mol.	osm. Dr. = g Mol. × i	%	g Mol.	osm. Dr. = g Mol. × i	%	osm. Dr. = g Mol.	%
1. Rind	0,105	0,1995	0,619				0,065	0,15275	0,923				0,15	5,13
2. „	0,12	0,228	0,707				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
3. Schaf	0,12	0,228	0,707				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
4. Schwein	0,105	0,1995	0,619				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
5. Pferd	0,105	0,1995	0,619				0,075	0,17625	1,065				Sämtl. Lös. zeigen Hb-Austritt	
6. „	0,11	0,209	0,649				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
7. „	0,11	0,209	0,649				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
8. Rind	0,11	0,209	0,649				0,075	0,17625	1,065				0,175	5,985
9. „	0,115	0,2185	0,678				0,08	0,188	1,136				0,175	5,985
10. Pferd	0,1	0,19	0,585				0,065	0,15275	0,923				Sämtl. Lös. zeigen Hb-Austritt	
11. „													do.	
12. Rind	0,12	0,228	0,707	0,12	0,2184	0,894				0,075	0,17265	1,305		
13. Schwein	0,12	0,228	0,707	0,13	0,2366	0,9685				0,075	0.17625	1,305		
14. Pferd	0,115	0,2185	0,678				0,07	0,1645	0,994				do.	

Ich mache zunächst, für nachfolgende Betrachtungen allerdings nebensächlich, auf den Wechsel der Testlösungen bei den einzelnen Versuchen aufmerksam. Sie bewegten sich, wie die Tabelle 5 zeigt, in Grenzen von 0,105 -0,12 g M. = 0,619—0,707% NaCl, von 0,12—0,13 g M. KCl = 0,894 —0,9685% KCl, von 0,065—0,08 g M. Na_2SO_4 = 0,923 — 1,136% Na_2SO_4, von 0,15—0,175 g M. Rohrzucker = 5,13 —5,985% Rohrzucker. In zwei Versuchen mit K_2SO_4 wurde als Testlösung 0,075 g Mol. K_2SO_4 = 1,305% K_2SO_4 gefunden. Diesem Wechsel der Testlösungen liegt, wie oben schon ausgeführt wurde, ein verschiedener Salzgehalt oder verschiedene Resistenz zu Grunde, von welchen beiden Faktoren die Konzentration der Testlösung abhängig ist.

Ungleich mehr interessiert uns der Vergleich der Testlösungen der Parallelversuche unter sich, die wir nach unserer obigen 2. Forderung darauf hin zu prüfen haben, ob dieselben gleichen osmotischen Druck haben.

Wir finden, dass in Versuch 1) die NaCl-Testlösung einen osmotischen Druck hat von 0,1995 Mol., die Na_2SO_4-Testlösung einen solchen von 0,15275 Mol., die Rohrzucker-Testlösung einen solchen von 0,15 Mol. Gehen wir so die Versuche der Reihe nach durch, so kommen wir zu dem auffallenden Resultat, dass die Testlösungen der Chloride stets einen nicht unbedeutend höheren osmotischen Druck haben als die Na_2SO_4-, K_2SO_4- und Zucker-Testlösungen; z. B. hat im Versuch 1) die NaCl-Testlösung einen osmotischen Druck von 0,1995 Mol. gegen 0,15275 Mol. der Na_2SO_4-Testlösungen und gegen 0,15 Mol. der Zucker-Testlösung. Der osmotische Druck der Nicht-Chloride hingegen ist in allen Versuchen nahezu der gleiche; z. B. hat in Versuch 1 die Na_2SO_4-Testlösung einen osmotischen Druck von 0,15275 Mol. und die Zucker-Testlösung einen osmotischen Druck von 0,15 Mol. Der trotzdem bestehende kleine Unterschied beträgt nicht eine ganze folgende Lösung (eine Lösung gleich 0,01 Mol.) und kann deshalb vernachlässigt werden.

Diesen sehr wichtigen Befund habe ich versucht durch die Tabelle 6 noch besser zu veranschaulichen, indem ich darin die Unterschiede des osmotischen Druckes der Chloride einerseits, der Nichtchloride anderseits und der Nichtchloride unter sich besonders berechnet habe. Um sich unter diesen Unterschieden des osmotischen Druckes, die ganz absolut in Molekülen gefunden wurden, und so in der Tabelle verzeichnet sind, etwas Konkretes vorstellen und besonders, um die Grösse dieses Unterschiedes beurteilen zu können, habe ich die Unterschiede in Gewichtsmoleküle NaCl und Prozente NaCl in Grammen umgerechnet und auch die Anzahl Lösungen hinzugefügt, welche diese Unterschiede für die bei den Versuchen gebrauchten NaCl-Konzentrationen bedeuten. (Eine Lösung = 0,005 g Mol. = 0,029% NaCl). Eines weiteren Kommentars bedarf diese Tabelle wohl kaum. Es sei nur darauf aufmerksam gemacht, dass die Testlösungen der Chloride gegenüber den Testlösungen der Nichtchloride einen höheren osmotischen Druck haben von 0,02325—0,06035 Mol. = 0.0112—0,0318 g Mol.NaCl = 0,07135 bis 0,1858% NaCl in Grammen = 2—6 NaCl-Lösungen. Dagegen erreichen die Unterschiede des osmotischen Druckes der Testlösungen der Nichtchloride unter sich in 7 Versuchen keine bemerkenswerte Grösse. Nur in einem Versuch erreicht er den Wert einer folgenden Lösung, nämlich 0,013 Mol. = 0,006 g Mol. NaCl = 0,0351% NaCl. Dieser eine Versuch, bei dem ein Versehen meinerseits nicht ausgeschlossen ist, kann die durch die 7 übrigen Versuche bewiesene Thatsache, dass die Testlösungen der Nichtchloride gleichen osmotischen Druck haben, wohl kaum beeinträchtigen. Es sind die Unterschiede des osmotischen Druckes der Testlösungen der Nichtchloride in diesen 7 Versuchen verschwindend klein, nämlich 0,00125—0,00275 Mol. = 0,0006—0,0014 Mol.NaCl = 0,00351 bis 0,00819% NaCl = $^1/_5$—$^1/_{10}$ einer folgenden NaCl-Lösung. Die Chloride unter sich zeigen einen Unterschied von ca. 0,01 Mol., also ungefähr den Wert einer Lösung.

Tabelle 6. Unterschied des osmotischen Druckes der Testlösungen der einzelnen Stoffe.

Mit Luft geschütteltes Blut vom	NaCl minus Na_2SO_4				NaCl minus Zucker				Na_2SO_4 minus Zucker			
	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol.NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lös.	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol.NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lös.	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol.NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lös.
1) Rind . .	0,04675	0,0246	0,14391	5	0,0495	0,026	0,1521	5	0,00275	0,0014	0,00819	0
2) „ . .	0,05175	0,0272	0,15912	5	0,053	0,0279	0,1632	6	0,00125	0,0006	0,00351	0
3) Schaf .	0,05175	0,0272	0,15912	5	0,053	0,0279	0,1632	6	0,00125	0,0006	0,0035I	0
4) Schwein	0,02325	0,0122	0,07137	2	0,0245	0,0129	0,0754	3	0,00125	0,0006	0,00351	0
5) Pferd . .	0,02325	0,0122	0,07137	2	—	—	—	—	—	—	—	—
6) „ . .	0,03275	0,0172	0,10062	3	0,034	0,0179	0,1047	4	0,00125	0,0006	0,00351	0
7) „ . .	0,03275	0,0172	0,10062	3	0,034	0,0179	0,1047	4	0,00125	0,0006	0,00351	0
8) Rind . .	0,03275	0,0172	0,10062	3	0,034	0,0179	0,1047	4	0,00125	0,0006	0,00351	0
9) „ . .	0,0305	0,0172	0,10062	3	0,0435	0,0229	0,1339	5	0,013	0,006	0,00351	1
10) Pferd . .	0,03725	0,0196	0,11466	4	—	—	—	—	—	—	—	—

	NaCl (I) minus KCl (II)				NaCl minus K_2SO_4				KCl minus K_2SO_4			
	osm. Druck	= g Mol. Na Cl.	= % NaCl	Lös.	osmot. Druck	= g Mol. NaCl.	= % NaCl	Lös.	osm. Drck.	= g Mol.NaCl	= % NaCl	Lös.
11) Rind . .	0,009 (I min. II)	0,005	0,02925	1	0,05175	0,0275	0,1608	6	0,04215	0,022	0,1287	4
12) Schwein .	0,008 (II min. I)	0,0045	0,026325	1	0,05175	0,0275	0,1608	6	0,06035	0,0318	0,1858	6
					NaCl minus Na_2SO_4							
13) Pferd . .	—	—	—	—	0,054	0,028	0,1622	6	—	—	—	—

Bei den Versuchen mit nicht defribiniertem, meist von Hunden entnommenem Blut, welche in Tabelle 7 enthalten sind, wurde bei der Entnahme desselben so verfahren, dass mit einer aus einer Metallhülse mittelst Feder hevorschnellbaren Lanzette, welche je nach der Dicke der Haut verstellt werden konnte, an der unteren oder oberen Fläche des Ohres ein kleines Blutgefäss geöffnet wurde. Das spontan herausquellende Blut wurde in Tropfen mittelst der bereitgehaltenen, schon mit der Lösung gefüllten Reagensgläsern aufgefangen und umgeschüttelt. Nach genügenem Stehen der Mischungen wurde dann die Testlösung notirt.

Tabelle 7.

Versuche mit nicht defibriniertem Blute von verschiedenen Hunden	NaCl-Testlösung			Rohrzucker-Testlösung		Na_2SO_4-Testlösung		
	g Mol.	%	g Mol. × i	g Mol.	%	g Mol.	%	g Mol. × i
1.	0,075	0,43875	0,1425					
2.	0,075	0,43875	0,1425					
3.	0,075	0,43875	0,1425					
4.	0,08	0,468	0,152					
5.	0,08	0,468	0,152	0,1125	3,8475			
6.	0,075	0,43875	0,1425	0,125	4,275			
7.	0,07	0,4095	0,133	0,1125	3,8475			
8.	0,08	0,468	0,152	0,125	4,275			
9.	0,085	0,49725	0,1615	0,1375	4,7025			
10.	0,075	0,43875	0,1425	0,1375	4,7025			
11.	0,07	0,4095	0,133	0,1125	3,8475			
12.	0,075	0,43875	0,1425	0,1125	3,8475			
13.	0,075	0,43875	0,1425	0,1375	4,7025			
14.	0,09	0,527	0,171	0,15	5,13	0,065	0,923	0,15275
15.	0,1	0,585	0,19	Alle Lösungen zeigen Hb-Austritt		0,055	0,781	0,12925
16.	0,095	0,556	0,1805	do.		0,055	0,781	0,12925
17.	0,1	0,585	0,19	do.		0,055	0,781	0,12925

Die Versuche mit nicht defibriniertem Blute zeigen ganz dasselbe Bild wie die mit defibriniertem Blut. Auch hier haben die Testlösungen der Chloride einen höheren osmotischen Druck, als die der Nichtchloride, wie es die Tabelle 7 zeigt.

Die Unterschiede des osmotischen Druckes der Testlösungen in den Parallelversuchen sind in Tabelle 8 enthalten. Die NaCl-Testlösungen zeigen daselbst in gleicher Weise, wie oben bei den Versuchen mit defibriniertem Blut, gegenüber den Zucker-Testlösungen einen höheren osmotischen Druck von 0,005—0,0395 Mol. = 0,0152—0,1275% NaCl = 1—4 NaCl-Lösungen, gegenüber den Na_2SO_4-Testlösungen ein Mehr an Molekülen von 0,01825—0,06075 = 0,0561—0,1872% NaCl = 2—6 NaCl-Lösungen. Die Zucker- und Na_2SO_4-Testlösung des einen Versuchs hingegen haben ein zu vernachlässigenden kleinen Unterschied des osmotischen Drucks von 0,00275 Mol., der nur ca. $^1/_5$ einer folgenden NaCl-Lösung beträgt.

Das Resultat der Versuche ist also, dass unsere zweite Forderung nicht in dem Masse zutrifft, wie wir sie stellten. Sowohl bei defibriniertem als nicht defibriniertem Blut hatten die NaCl- resp. KCl-Testlösungen einen höheren osmotischen Druck, als die Testlösungen der Nichtchloride, während letztere unter sich gleichen osmotischen Druck hatten. Die Forderung trifft also nur für die Nichtchloride zu.

Ehe ich mich der Frage zuwende, ob trotz dieses Befundes die osmotischen Gesetze als für die Methode geltend angesehen werden können, möchte ich kurz andeuten, wie man mittelst der Methode den Dissociationskoëfficienten berechnen kann.

Tabelle 8. Unterschied des osmotischen Druckes zwischen den Testlösungen der einzelnen Stoffe.

Versuche mit nicht defibriniertem Blute von verschiedenen Hunden	NaCl (I) minus Zucker				NaCl minus Na_2SO_4				Na_2SO_4 minus Zucker			
	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lösung	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lösung	Differenz des osm. Druckes	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz = Anzahl Lösung
5.	0,0395	0,0208	0,1275	4								
6.	0,0175	0,009	0,0526	2								
7.	0,0205	0,0108	0,063	2								
8.	0,027	0,0142	0,083	3								
9.	0,024	0,0126	0,0737	3								
10.	0,005	0,0026	0,0152	1								
11.	0,0205	0,0108	0,063	2								
12.	0,03	0,0158	0,0922	3								
13.	0,005	0,0026	0,0152	1								
14.	0,021	0,011	0,0643	2	0,01825	0,0096	0,0561	2	0,00275	0,0014	0,00819	0
15.					0,06075	0,032	0,1872	6				
16.					0,05125	0,027	0,1579	5				
17.					0,06075	0,032	0,1872	6				

a) Die Berechnung des Dissociationskoëfficienten mittelst der Hamburger'schen Methode.

Wir hatten oben gesehen, dass der Dissociationskoëfficient das Verhältnis der wirklich in Lösung befindlichen zu den in Lösung gegebenen Molekülen darstellt und wir drückten dieses Verhältnis aus durch $\frac{m_2}{m}$. Dies Verhältnis muss also gegeben sein, wenn der Dissociationskoëfficient (i) berechnet werden soll. Unter Zuhülfenahme der aufgefundenen Testlösungen finden wir das Verhältniss folgendermassen. Wir wollen z. B. den Dissociationskoëfficienten (i) für Na_2SO_4 berechnen und haben als Testlösung für Na_2SO_4 eine Lösung von 0,0659 Mol. Na_2SO_4 gefunden. In diesem Falle ist m, die Anzahl gelöster Moleküle gegeben und = 0,065. m_2 ist nicht direkt aber indirekt gegeben, wenn wir bei dem zu prüfenden Stoff gleichzeitig in demselben Versuch die Testlösung eines nicht dissiociierenden Stoffes z. B. Rohrzucker aufsuchen. Wir finden die Rohrzucker-Testlösung z. B. zu 0,15 g Mol. Diese durch denselben Versuch gefundenen Testlösungen beider in unserem Versuch 0,15 g Mol. Zucker und 0,065 g Mol. Na_2SO_4 haben gleichen osmotischen Druck. Dieses setzt eine gleiche Anzahl in Lösung befindliche Moleküle voraus. Letztere sind für Zucker bekannt, da dieselben gleich der Anzahl gelöster Moleküle sind, weil der Zucker nicht dissociiert. Die Anzahl der gelösten Zuckermoleküle ist aber auch gleich der Anzahl der in der Lösung befindlichen, dissociierter und nicht dissociierter Moleküle der Na_2SO_4-Testlösung wegen des gleichen osmotischen Druckes beider Testlösungen. m_2 ist also gleich der Anzahl der gelösten Moleküle der Zucker-Testlösung, in unserem Beispiele also = 0,15; und so ist auch das ganze Verhältnis $\frac{m_2}{m}$ bekannt, also für obiges Beispiel $i = \frac{0,15}{0,065}$ = 2,3 für eine 0,065 g Mol.Na_2SO_4-Lösung.

Das abweichende Verhalten der Chloride wird sich natürlich auch bei dieser Berechnung dokumentieren und da die Chloride einen zu hohen osmotischen Druck hatten, und also der Nenner zu gross wird, wird der Quotient d. i. der Dissociationskoëfficient zu klein werden.

Tabelle 9. Berechnung des Dissociationskoëfficienten.

Nicht defibriniertes Blut von verschiedenen Hunden.	Testlösungen			Testlösungen.		
	Rohrzucker g Mol.	NaCl g Mol.	Berechnung des i	NaCl g Mol.	Berechnung des i	
5)	0,1125	0,08	$\frac{0,1125}{0,08} = 1,4$			nach Raoult
6)	0,125	0,075	$\frac{0,125}{0,075} = 1,66$			i für eine
7)	0,1125	0,07	$\frac{0,1125}{0,07} = 1,6$			0,1539 Mol. NaCl-Lösung = 1,9.
8)	0,125	0,08	$\frac{0,125}{0,08} = 1,56$			Nach Arrhe-
9)	0,1375	0,085	$\frac{0,1375}{0,085} = 1,61$			nius für eine
10)	0,1375	0,075	$\frac{0,1375}{0,075} = 1,83$			0,099 Mol. Na_2
11)	0,1125	0,07	$\frac{0,1125}{0,007} = 1,6$			SO_4 Lösung
12)	0,1125	0,075	$\frac{0,1125}{0,075} = 1,5$			i = 2,35
13)	0,1375	0,075	$\frac{0,1375}{0,075} = 1,83$			
14)	0,15	0,09	$\frac{0,15}{0,09} = 1,66$	0,065	$\frac{0,15}{0,065} = 2,3$	

Thatsächlich fand ich i für NaCl immer zu klein. Bei 10 Versuchen mit nicht defibriniertem Blut schwankte i (Tabelle 9) für NaCl zwischen 1,4—1,83, während. Raoult für eine annähernd gleich konzentrierte Lösung durch Gefrierpunktsbestimmung i = 1,9 gefunden hatte. Für die Nichtchloride hingegen war eine gute Übereinstimmung des i mit dem nach physikalischen Methoden gefundenen zu vermuten, da für diese Stoffe die Testlösungen desselben Versuchs isosmotisch waren, und sie ergab sich thatsächlich. Für eine 0,065 g Mol. Na_2SO_4-Lösung wurde bei Verwendung von nicht defibriniertem Blut i mit 2,3 bestimmt. Arrhenius fand für eine 0,09 g Mol. Na_2SO_4-Lösung i = 2,35.

Bei Verwendung von defibriniertem Blut (Tabelle 10) schwankt i in acht Versuchen für NaCl für Lösungen von im Mittel 0,112 g Mol. NaCl zwischen 1,33—1,67, während i in 6 Versuchen für Na_2SO_4 für Lösungen von im Mittel 0,074 g Mol. Na_2SO_4 2,33, in einem Versuch 2,3 und nur in dem schon erwähnten Fehlversuch 2,18 betrug. Die Resultate zeigen also für die Nichtchloride eine leidliche Übereinstimmung mit dem nach physikalischen Methoden gefundenen i.

Tabelle 10. Berechnung des Dissociationskoëfficienten vermittelst der Hamburger'schen Methode.

Mit Luft geschütteltes Blut vom	Testlösungen: Rohrzucker g Mol.	Testlösungen: NaCl g Mol.	Berechnung von i	Testlös. Na_2SO_4 g Mol.	Berechnung von i	
1. Rind	0,15	0,105	$\frac{0,15}{0,105} = 1,33$	0,065	$\frac{0,15}{0,065} = 2,3$	von Raoult
2. „	0,175	0,12	$\frac{0,175}{0,12} = 1,46$	0,075	$\frac{0,175}{0,075} = 2,33$	für eine 0,153 g M. NaCl-Lösung
3. Schaf	0,175	0,12	$\frac{0,175}{0,12} = 1,46$	0,075	$\frac{0,175}{0,075} = 2,33$	i = 1,9
4. Schwein	0,175	0,105	$\frac{0,175}{0,105} = 1,67$	0,075	$\frac{0,175}{0,075} = 2,33$	nach Arrhenius
5. Pferd						für eine 0,09 g M. Na_2SO_4-Lösung
6. „	0,175	0,11	$\frac{0,175}{0,11} = 1,59$	0,075	$\frac{0,175}{0,075} = 2,33$	i = 2,35
7. „	0,175	0,11	$\frac{0,175}{0,11} = 1,59$	0,075	$\frac{0,175}{0,075} = 2,33$	
8. Rind	0,175	0,11	$\frac{0,175}{0,11} = 1,59$	0,75	$\frac{0,175}{0,975} = 2,33$	
9. „	0,175	0,11	$\frac{0,175}{0,11} = 1,59$	0,08	$\frac{0,175}{0,08} = 2,18$	
Mittelwerte	0,172	0,112	$\frac{0,172}{0,112} = 1,53$	0,074	$\frac{0,172}{0,074} = 2,31$	

Anmerkung: Unter 14 in Tabelle 5 mitgeteilten Versuchen, bei denen teils NaCl, Na_2SO_4 und Rohrzucker, teils KCl, K_2SO_4 und Rohrzucker zusammen verwendet wurde, misslangen 4 Zuckerversuche. Sämmtliche Lösungen nämlich zeigten Hämoglobin-Austritt.

Bei diesen Versuchen kann natürlich der Dissociationskoëfficient für die verwendeten Stoffe nicht berechnet werden, da mit Ausfall der Zuckerversuche der nicht dissociierende Stoff und somit m_2 fehlt.

Für diese Erscheinung, die auch bei Versuchen mit nicht defibriniertem Blut einige Male störend einwirkte, konnte das verwendete Blut nicht verantwortlich gemacht werden, da durch die Parallelversuche mit NaCl und Na_2SO_4 oder KCl und K_2SO_4 die Kontrolle gegeben war. Es musste derselben eine andere Ursache zu Grunde liegen, die sich meiner Beurteilung entzieht.

c) Berechnung des Molekulargewichtes mittelst der Methode.

Ich konnte aus den obigen Versuchen auch das Molekulargewicht für NaCl, KCl und Na_2SO_4 berechnen, wie es Walter Löb[8]) angegeben hat. Nach Löb verhält sich $\frac{cp}{m} = \frac{CP}{M}$ (m, M = Molekulargewicht, p,P = isotonische Lösungen mit Konzentrationsangabe in Gewichtsprozenten, c, C = isotonischen Koëfficienten de Vries); also ist das zu suchende $m = \frac{pCM.}{CP}$ Ich modifizierte diese Rechnung Löb's dahin, dass ich nicht die isotonischen Koëfficienten de Vries, sondern die Dissociationskoëfficienten der betreffenden Stoffe in dieselbe einführte, d. h. für c u. C, i und i_1. Die Gleichung lautet dann also: $m = \frac{piM.}{i_1P}$. Wir haben z. B. in Tabelle 7, Versuch 14 eine Lösung von 5,13% Zucker und eine Lösung von 0,923% Na_2SO_4 isotonisch gefunden. i für Na_2SO_4 ist 2,3 für die betreffende Lösung. i für Zucker ist 1, das Molekulargewicht des Zuckers ist 342, dann ist das Molekulargewicht für Na_2SO_4, unsere zu berechnende unbekannte $m = \frac{342.2,3.0,923}{5,13.1} = 141,5$

Da auch bei dieser Rechnung die gefundenen Testlösungen als Faktoren wirken, so wird auch das Resultat dementsprechend ausfallen. Bei den Chloriden muss die Rechnung ein falsches und zwar zu hohes Molekulargewicht ergeben.

Bei 12 Versuchen mit nicht defibriniertem Blut (Tabelle 11) wurde das Molekulargewicht für NaCl mit 60,6—84,8, bei defibriniertem Blut (Tabelle 7) in 11 Versuchen mit 70,5 bis 78,3, also immer zu hoch gefunden, da dasselbe 58,5 beträgt; für Na_2SO_4 stimmte dagegen in einem Versuche mit nicht defibriniertem Blute genau und betrug also 142; bei

defibriniertem Blut betrug es in einem Versuch ebenfalls 142, in 6 Versuchen 143, und einmal, in dem Fehlversuch 152. Es war also nur in dem letzteren eine grössere Abweichung zu konstatieren.

Tabele 11.

Nicht defibriniertes Blut von verschiedenen Hunden	Molekulargewicht für NaCl, wenn das des Rohrzuckers gegeben ist	Molekulargewicht für Na_2SO_4, wenn das des Rohrzuckers gegeben ist	
5.	$\frac{342.1,9.0,468}{3,8475} = 79$		
6.	$\frac{342.1,9.0,43875}{4,275} = 66,7$		Molekulargewicht von:
7,	$\frac{342.1,9.0,4095}{3,8475} = 69,2$		NaCl = 58,5
8.	$\frac{342.1,9.0,468}{4,275} = 71,1$		Na_2SO_4 = 142
9.	$\frac{342.1,9.0,49725}{4,7025} = 68,7$		
10.	$\frac{342.1,9.0,43875}{4,7025} = 60,6$		
11.	$\frac{342.1,9.0,4095}{3,8475} = 69,2$		
12.	$\frac{342.1,9.0,43875}{3,8475} = 74,4$		
13.	$\frac{342.1,9.0,43775}{4,7025} = 60,6$		
14.	$\frac{342.1,9.0,517}{5,13} = 68,2$	$\frac{342.2,35.0,923}{5,13} = 142$	
	Wenn Na_2SO_4 gegeben ist		
15.	$\frac{142.1,9.0,585}{0,781.3,35} = 84,8$		
16.	$\frac{142.1,9.0,556}{0,781.2,35} = 80,6$		
17.	$\frac{142.1,9.0,585}{0,781.2,35} = 84,8$		

Die erforderlichen Testlösungen sind aus den mit denselben Ziffern bezeichneten Versuchen der Tabelle 7 genommen.

Tabelle 12.

Mit Luft geschütteltes Blut vom	Molekulargewicht für Na_2SO_4, wenn das des Zuckers bekannt ist	Molekulargewicht für NaCl, wenn das des Zuckers bekannt ist	
1. Rind	$\frac{342.2\,35.0923}{5,13} = 142$	$\frac{342.1,9.0,619}{5,13} = 78,4$	Molekulargewicht:
2. „	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,707}{5,985} = 76,7$	von KCl = 74,5
3. Schaf	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,707}{5,985} = 76,7$	„ NaCl = 58,5
4. Schwein	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,619}{5,985} = 78,4$	„ Rohrzucker = 342
6. Pferd	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,649}{5,985} = 70,5$	„ K_2SO_4 = 174
7. „	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,649}{5,985} = 70,5$	„ Na_2SO_4 = 142
8. Rind	$\frac{342.2,35.1,065}{5,985} = 143$	$\frac{342.1,9.0,649}{5,985} = 70,5$	
9. „	$\frac{342.2,35.1,136}{5.985} = 152$	$\frac{342.1,9.0,678}{5,985} = 73,5$	
		Molekulargewicht für NaCl, wenn das des K_2SO_4 bekannt ist	Molekulargewicht für KCl, wenn das des K_2SO_4 bekannt ist
12. Rind		$\frac{174.1,9.0,707}{2,35.1,305} = 76,2$	$\frac{174.1,82.0,894}{2,35.1,305} = 92,3$
13. Schwein		$\frac{174.1,9.0,707}{2,35.1,305} = 76,2$	$\frac{174.1,82.0,9685}{2,35.1,305} = 100$
		Molekulargewicht für NaCl, wenn das des Na_2SO_4 bekannt ist	
14. Pferd		$\frac{142.1,9.0,678}{2,35.0,994} = 78,3$	

Die gebrauchten Testlösungen sind aus den gleichziffrigen Versuchen aus Tabelle 5 genommen.

d) Lässt sich obiges Verhalten der Chloride im Einklang bringen mit den osmotischen Gesetzen.

Könnte man nachweisen, dass NaCl teilweise in die Blutkörperchen eintritt, so wäre dadurch eine Erklärung für das abweichende Verhalten der Chloride gegeben. Thatsächlich wies zunächst Hamburger[12]) und nach seinem Vorgange v. Limbeck[13]) ein Verschwinden eines Teiles Kochsalz aus dem Serum nach.

Da die oben erwähnten Hamburger'schen Versuche, welche denselben Befund aufweisen, nicht einwandsfrei sind, so lasse ich dieselben unberücksichtigt.

Durch folgenden Versuch hat dann Hamburger[12]) den Übertritt von Chloriden unanfechtbar nachgewiesen: In den einen Teil eines Quantums Blut leitete er längere Zeit CO_2. Der andere Teil wurde mit Luft geschüttelt. Beide Teile wurden dann centrifugiert und das abgehobene Serum mittelst $AgNO_3$ titriert. Es zeigte sich dann, dass das künstlich venös gemachte Blutserum gegenüber dem ursprünglichen ein Verlust an Chloriden erlitten hatte. Dahingegen hatte das CO_2-Serum an festen Bestandteilen zugenommen.

Darauf stellte er folgenden Versuch an: Er leitete CO_2 durch Blut, centrifugierte und leitete durch das abgehobene Serum Luft, um die CO_2 auszutreiben und die infolge der CO_2 Einleitung erfolgte Erhöhung des osmotischen Druckes dieses Serums zu beseitigen. Eine Prüfung durch die Blutkörperchenmethode ergab dann trotz der Abnahme der Chloride keine wesentliche Verringerung des osmotischen Druckes.

Da er also durch den ersten Versuch nachgewiesen hatte, dass bei Einleitung von CO_2 in Blut Chloride überwandern, durch den zweiten Versuch aber, dass trotz dieser Abnahme der Chloride des Serums der osmotische Druck desselben auch nach Entfernung der CO_2 durch Einleitung von Luft derselbe geblieben war, so schloss Hamburger, dass eine den eingetretenen Chloriden in Beziehung auf ihre

osmotische Druckwirkung gleichwertige Menge anderer Stoffe ausgetreten sei, wofür auch die Zunahme des Serums an festen Bestandteilen sprach.

Auf Grund dieser Versuche hielt Hamburger den Austausch von Stoffen zwischen Serum und Blutkörperchen bei CO_2 Einleitung in Blut und zwar im „isotonischen Verhältnis“ für erwiesen.

Auch v. Limbeck[13]) konnte bei Wiederholung des ersten Hamburger'schen Versuches ein Verschwinden von Chloriden aus dem Serum bei CO_2-Einleitung konstatieren; es wies aber nach, dass die Zunahme des Serums an festen Bestandteilen und Erhaltung des ursprünglichen osmotischen Druckes desselben, wie es Hamburger in seinem zweiten Versuch gefunden zu haben glaubte, auf die durch die CO_2-Einleitung herbeigeführte Eindickung des Serums zurückzuführen sei. Es musste also, wenn das Serum eingedickt wurde und doch seinen ursprünglichen osmotischen Druck bewahrte, eine Abnahme der für den osmotischen Druck in Betracht kommenden Bestandteile stattgefunden haben. Die Behauptung Hamburgers in Betreff des Austausches im isotonischen Verhältnis wird dadurch hinfällig.

Auf Grund dieser beiden Versuche muss als feststehend betrachtet werden, dass

1) bei CO_2-Einleitung in das Blut Chlor in die Blutkörperchen eintritt,

2) die Überwanderung eine Verschiebung des osmotischen Gleichgewichts zwischen Serum und Blutkörperchen zur Folge hat, und zwar wird der Druck aussen geringer, innen höher.

Diesen Vorgang sich physikalisch vorzustellen, hat neuerdings Koeppe[9]) versucht. Koeppe sagte sich, dass für den Übertritt nicht dissociierte NaCl Moleküle nicht in Betracht zu ziehen seien, da NaCl in einer derartig gering konzentrierten Salzlösung, wie sie das Serum darstellt, fast ganz dissociiert ist. Von den dissociierten Molekülen aber

den Jonen Na und Cl konnte nur letzteres in Betracht kommen, da Na-Jonen unter keinen Umständen eintreten können. Das Cl-Jon dagegen kann in das Blutkörperchen eintreten. Sollte dieses Cl-Jon, das durch seine negative Elektrizität an das positiv-elektrische Na-Jon gebunden ist, aber eintreten können, so musste dieses negativ-elektrische Jon durch ein gleichfalls negativ-elektrisches anderes Jon ersetzt werden.

Durch einen Versuch Gürber's, der eine vorher neutrale Blutkörperchen-NaCl-Mischung durch Einleiten von CO_2 alkalisch werden sah, wurde Koeppe darauf gelenkt, dass die obige Funktion von der CO_2 übernommen werden könnte. Die Wiederholung dieses Versuches immer mit demselben Resultat sprach mit grosser Wahrscheinlichkeit für diese Auffassung, und Koeppe erklärt sich den Vorgang folgendermassen. Es treten 2 elektronegative Cl-Jonen in die Blutkörperchen ein, dafür aber tritt ein elektronegatives zweiwertiges CO_3-Jon aus. Letzteres bedingt, indem es dem Wasser des Serums ein H-Jon entzieht und dadurch OH-Jon freimacht, die alkalische Reaktion. Durch den Austausch von 2 Jonen gegen ein Jon wird aber der osmotische Druck im Blutkörperchen grösser. Dieses wird Wasser ansaugen. Will man das verhindern, so muss draussen der osmotische Druck durch Lösung von entsprechend mehr Salz erhöht werden. Durch diese Überlegung findet das abweichende Verhalten der Chloride eine ausreichende und gute Erklärung.

Machen wir von dem Gesagten eine Anwendung auf die Hamburger'sche Methode, so müsste also bei CO_2 Einleitung ein Ansteigen des osmotischen Druckes der NaCl-Testlösungen gegenüber den Testlösungen der Methode beobachtet werden.

X. Bestätigt sich auch durch die Hamburger'sche Methode der Einfluss der CO_2 auf den Übertritt von Cl in die Blutkörperchen?

Es lag nun nah, den Einfluss der CO_2 auf die Uberwanderung von Cl-Jonen aus den Lösungen in die Blutkörperchen auch mit dieser Methode einer Prüfung zu unterwerfen. Es wurden zu diesem Zweck eine Reihe von Versuchen mit Blut angestellt, von dem ein Teil mit Luft geschüttelt, in einen zweiten längere Zeit CO_2 eingeleitet wurde.

Über diese Versuche mit CO_2-Blut informiert die Tabelle 13.

Tabelle 13.

Defibriniertes Blut in welches CO_2 eingeleitet wurde vom	NaCl-Testlösung			KCl-Testlösung			Na_2SO_4-Testlösung			K_2SO_4-Testlösung			Rohrzucker-Testlösung	
	g Mol.	g Mol. X i	%	g Mol.	g Mol. X i	%	g Mol.	g Mol. X i	%	g Mol.	g Mol. X i	%	g Mol.	%
1. Rind	0,11	0,209	0,649				0,07	0,1645	0,994				0,15	5,13
2. „													0,225	7,695
3. Schaf													0,225	7,695
4. Schwein													0,2	6,84
6. Pferd	0,14	0,266	0,824				0,09	0,2115	1,278				0,2	6,84
7. „							0,095	0,22375	1,349				0,225	7,695
8. Rind	0,125	0,2375	0,736				0,085	0,19975	1,207				0,2	6,84
9. „	0,14	0,266	0,824				0,09	0,2115	1,278				0,225	7,695
10. Pferd	0,13	0,247	0,766				0,085	0,19975	1,207					
12. Rind	0,14	0,266	0,824	0,14	0,2548	1,043				0,09	0,2115	1,566		
13. Schwein	0,145	0,2755	0,853	0,155	0,2821	1,154				0,095	0,22325	1,653		

Da die CO_2 bei Einleitung in Blut sowohl vom Serum, als auch von den Blutkörperchen aufgenommen wird, so wird der osmotische Druck im Serum und Blutkörperchen zwar verändert, aber um ein Gleiches und zwar erhöht werden. Bringen wir nun diese Blutkörperchen, deren osmotischer Druck durch die CO_2 erhöht ist, in unsere Salzlösungen, so wird sich diese Veränderung des osmotischen Drucks der Blutkörperchen bei der Probe durch die Hamburger'sche Methode dadurch zeigen, dass dieselben schon in einer höheren Konzentration Wasser anzusaugen beginnen und infolgedessen auch in einer höheren Konzentration ihr Hämoglobin abgeben, als die mit Luft geschüttelten Blutkörperchen (Tabelle 5), was in Tabelle 14 dadurch veranschaulicht wird, dass die Unterschiede der Testlösungen angegeben werden, welche dieselben aufweisen beim Vergleich der Testlösungen des CO_2- und O-Blutes in den Parallelversuchen (Tab. 5, Tab. 13). Die Testlösungen des CO_2-Blutes hatten z. B. (Tab. 14) für NaCl einen um 0,005—0,039 Mol. = 0,03—0,175% NaCl, bei KCl einen um 0,02—0,025 g Mol. = 0,149—0,1855% KCl, für Na_2SO_4 einen um 0,005—0,02 g Mol. = 0,071—0,284% Na_2SO_4, bei K_2SO_4 einen um 0,015 — 0,02 g Mol. = 0,261—0,348 % K_2SO_4, für Zucker einen um 0,025—0,050 g Mol. = 0,855—1,71% Zucker höheren osmotischen Druck als die Testlösung des mit Luft geschüttelten Blutes.

Dieser Befund ist nicht auffällig und war zu erwarten.

Wir wollen vielmehr vor allem die Frage zu beantworten suchen, ob die CO_2-Einleitung einen Übertritt von Cl veranlasst hat. Wodurch wird sich dieses zeigen?

Erfolgt dieser Übertritt im isotonischen Verhältnis, d. h. tritt für die eintretenden Cl-Jonen eine solche Menge anderer Stoffe aus, dass der osmotische Druck zwischen Blutkörperchen und umgebender Lösung nicht verändert wird, so können wir einen Übertritt mittelst dieser Methode nicht nachweisen.

Nur wenn durch den Cl-Übertritt eine Veränderung des osmotischen Druckes der Blutkörperchen hervorgerufen wird, können wir von der Grösse der Zunahme des osmotischen Druckes, also auch der NaCl-Testlösung bei CO_2-Einleitung gegenüber der Testlösung der Nichtchloride auf einen solchen Übertritt schliessen.

Wir müssen also fordern, dass die Differenz des osmotischen Druckes, der sich beim Vergleich der NaCl-Testlösungen des mit Luft geschüttelten Blutes gegenüber den mit CO_2 behandelten Blut ergiebt, grösser ausfalle, als die Differenz zwischen den Na_2SO_4- und Zucker-Testlösungen in demselben Versuch. Das plus an Molekülen, das die Differenz der NaCl-Testlösungen des CO_2- und O-Blutes gegenüber den Differenzen der Na_2SO_4- und Zucker-Testlösungen haben würde, würde den Einfluss der CO_2 auf den Übertritt des Cl bedeuten. Ein Vergleich zwischen den Testlösungen des O-Blutes in Tabelle 5 mit den gleichziffrigen Versuchen des CO_2-Blutes in Tabelle 13 ergiebt diese Differenzen, welche in Tabelle 14 notiert sind. Bei den meisten Versuchen trifft diese Forderung zu. Es muss z. B. in Versuch 6 das Mehr an Molekülen bei der NaCl-Differenz 0,0570 gegenüber der Na_2SO_4-Differenz 0,047 auf obigen Einfluss der CO_2 zurückgeführt werden.

Vergleichen wir die Differenzen der einzelnen Stoffe in Tabelle 14 aus allen Versuchen zusammengenommen mit einander, so sehen wir die Differenzen der NaCl-Testlösungen in Grenzen von 0,0096—0,0570 Mol., die der Na_2SO_4-Testlösungen in Grenzen von 0,01175—0,047 Mol., die der Rohrzucker-Testlösungen in Grenzen von 0,025—0,05 Mol. sich bewegen. Dass die NaCl-Differenzen den höchsten Wert erreichen, muss ebenfalls auf obige CO_2-Wirkung zurückgeführt werden.

Tabelle 14. Unterschied zwischen den Testlösungen von Blut, welches mit Luft geschüttelt und in welches CO_2 eingeleitet wurde.

Blut vom	NaCl			KCl			Na_2SO_4			K_2SO_4			Rohrzucker	
	Differenz = g Mol.	Differenz = %	Differenz = osm. Dr.	Differenz = g Mol.	Differenz = %	Differenz = osm. Dr.	Differenz = g Mol.	Differenz = %	Differenz = osm. Dr.	Differenz = g Mol.	Differenz = %	Differenz = osm. Dr	Differenz = g Mol.	Differenz = %
1. Rind	0,005	0,030	0,0096				0,05	0,071	0,01175				0	0
2. „													0,05	1,71
3. Schaf													0,05	1,71
4. Schwein													0,025	0,855
6. Pferd	0,03	0,175	0,0570				0,02	0,284	0,0470				0,025	0,855
7. „							0,02	0,284	0,047				0,05	1,71
8. Rind	0,015	0,087	0,0285				0,01	0,142	0,0235				0,025	0,855
9. „	0,025	0,146	0,0475				0,01	0,142	0,0235				0,05	1,71
10. Pferd	0,03	0,181	0,0570				0,02	0,284	0,047					
12. Rind	0,02	0,117	0,038	0,02	0,149	0,0364				0,015	0,261	0,0353		
13. Schwein	0,025	0,146	0,0475	0,025	0,1855	0,0455				0,02	0,348	0,047		

Für diese Wirkung spricht ferner der Befund, dass bei dem Vergleich der Unterschiede des osmotischen Druckes zwischen den Testlösungen der einzelnen Stoffe bei CO_2-Blut in Tabelle 15 mit den Unterschieden der Testlösungen des O-Blutes in Tabelle 8, bei O-Blut die Unterschiede der Testlösungen, welche zwischen Chloriden und Nichtchloriden bestehen, in den weitaus meisten Fällen bis auf den Wert von zwei Lösungen heruntergehen, während die Unterschiede bei CO_2-Blut nie unter 4 Lösungen betragen und bis zu 7 Lösungen steigen, bei O-Blut hingegen nur bis zu 6 Lösungen

Da man aber bei einigen Versuchen mit CO_2-Blut eine in die Augen springende Zunahme des osmotischen Druckes der NaCl-Testlösungen gegenüber denen der Nichtchloride als Folge der CO_2-Einleitung nicht konstatieren kann, so kann ich mich, wenigstens soweit es den Nachweis durch diese Methode betrifft, nur für die Wahrscheinlichkeit eines derartigen Einflusses der CO_2 aussprechen. Der strikte Beweis könnte auch mit dieser Methode geführt werden, wenn man es in der Hand hätte, das Blut immer genau gleich venös zu machen. Das ist aber nicht leicht, indem schon bei der Übertragung des Blutes in die Reagensgläser der hohe Partialdruck der CO_2 im Blute gegen den sehr geringen in der Luft sich auszugleichen sucht und CO_2 entweicht. So haben denn die Blutkörperchen, welche zuerst in die Lösungen übertragen werden, einen höheren CO_2-Gehalt und damit einen höheren osmotischen Druck als diejenigen, mit denen die letzteren beschickt werden. Aus diesem Grunde kann die auf einen Cl-Übertritt zurückzuführende Änderung des osmotischen Druckes durch CO_2-Einleitung klar und bestimmt nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 15. Unterschied des osmotischen Druckes zwischen den Testlösungen der einzelnen Stoffe.

Blut in welches CO_2 eingeleitet wurde vom	NaCl minus Na_2SO_4				Na_2SO_4 (I) minus Zucker				NaCl minus Zucker			
	Differenz = osm. Druck	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz Anzahl Lösung	Differenz = osm. Druck	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz Anzahl Lösung	Differenz = osm. Druck	Differenz = g Mol. NaCl	Differenz = % NaCl	Differenz Anzahl Lösung
1. Rind	0,0445	0,0234	0,1369	5	0,0145 (I—II)	0,007	0,04095	1	0,059	0,031	0,1813	6
6. Pferd	0,0545	0,0287	0,1663	6	0,0115 (I—II)	0,006	0,0351	1	0,066	0,035	0,2048	7
7. „					0,00175 (II—I)	0,0009	0,00526	0				
8. Rind	0,03775	0,0199	0,1164	4	0,0002 (II—I)	0,0001	0,000585	0	0,0375	0,0197	0,1152	4
9. „	0,0555	0,029	0,16965	6	0,0035 (II—I)	0,002	0,0117	0	0,041	0,0216	0,1264	4
10. Pferd	0,04725	0,6249	0,1457	5								
	NaCl (I) minus KCl (II)				KCl minus K_2SO_4				NaCl minus K_2SO_4			
12. Rind	0,0112	0,006	0,0351	1	0,0433	0,0228	0,1332	5	0,0545	0,029	0,1697	6
13. Schwein	0,0066 (II—I)	0,0035	0,0205	1	0,05885	0,0309	0,1807	6	0,05225	0,027	0,15795	5

Tabelle 16.

Blut in das CO_2 eingeleitet wurde vom	Molekulargewicht für Na_2SO_4, wenn das des Zuckers bekannt ist.	Molekulargewicht für NaCl, wenn das des Zuckers bekannt ist	
1) Rind	$\frac{342.2,35.0,994}{5,13} = 155$	$\frac{342.1,9.0,824}{5,13} = 104$	
6) Pferd	$\frac{342.2,35.1,278}{6,84} = 150$	$\frac{342.1,9.0,736}{6,84} = 69,9$	
7) „	$\frac{342\,2,35.1,349}{7,695} = 186,9$	$\frac{342.1,9.0,824}{7,695} = 69,9$	
8) Rind	$\frac{342.2,35.1,207}{6,84} = 149$	$\frac{342.1,9.0,766}{6,84} = 72,7$	
9) „	$\frac{342.2,35}{7,695} = 133$	$\frac{342.1,9.0,824}{7,695} = 69,9$	
		Molekulargewicht für NaCl, wenn das des K_2SO_4 bekannt ist.	Molekulargewicht des KCl, wenn das des K_2SO_4 bekannt ist.
12) Rind		$\frac{174.1,9.0,824}{2,35.1,650} = 74$	$\frac{174.1,82.1,040}{2,35.1,566} = 89,7$
13) Schwein		$\frac{174.1,9.0,853}{2,35.1,650} = 72,7$	$\frac{174.1,82.1,154}{2,35.1,653} = 94$

Berechnung des Dissociationskoëfficienten i

	Testlösungen		Berechnung von i für NaCl	Na_2SO_4 g Mol.	Berechnung von i für Na_2SO_4
	Rohrzucker g Mol.	NaCl g Mol.			
1. Rind	0,15	0,11	$\frac{0,15}{0,11} = 1,36$	0,07	$\frac{0,15}{0,07} = 2,14$
6. Pferd	0,2	0,14	$\frac{0,2}{0,14} = 1,43$	0,09	$\frac{0,2}{0,09} = 2,22$
8. Rind	0,2	0,125	$\frac{0,2}{0,125} = 1,6$	0,085	$\frac{0,2}{0,085} = 2,35$
9. „	0,225	0,14	$\frac{0,225}{0,14} = 1,6$	0,09	$\frac{0,225}{0,09} = 2,5$

Aus dem Entweichen der CO_2 erklärt sich auch die Erscheinung, dass bei den CO_2-Versuchen die Testlösungen der Nichtchloride in den Parallelversuchen keine Isotonie mehr zeigen. Unter 5 Versuchen waren die Testlösungen der Nichtchloride dreimal annähernd isotonisch, zweimal nicht, indem die Differenz mehr als eine folgende Lösung betrug (Tabelle 16). Und gerade dieser Befund zeigt die Schwierigkeit, eine Erhöhung des osmotischen Druckes der NaCl-Testlösungen bei den Versuchen mit CO_2-Blut gegenüber den Testlösungen der Nichtchloride mit dieser Methode nachzuweisen und damit den Cl-Übertritt auf CO_2-Wirkung zurückzuführen.

Die Berechnung des Dissociationskoëfficienten und des Molekulargewichts für CO_2-Blut (Tabelle 16) ergab aus diesem Grunde auch für die Nichtchloride falsche Resultate. i schwankt für Na_2SO_4 zwischen 2,14 und 2,5; das Molekulargewicht desselben Salzes zwischen 133 und 186,9. Diese Werte erreichen also auch nicht mehr eine annähernde Richtigkeit.

Bemerkung:

Wir haben gesehen, dass auch bei dem mit Luft geschüttelten Blut stets die NaCl-Testlösungen einen höheren osmotischen Druck zeigten, als die der Nichtchloride. Offenbar ist auch der Hämoglobin-Austritt einer höher konzentrierten NaCl-Lösung bei O-Blut auf den Übertritt von Chloriden zurückzuführen. Dem Bedenken, dass bei mit Luft geschütteltem Blut die CO_2 doch jenen Übertritt nicht bewirkt haben könnte, braucht man nur die Thatsache entgegen zu halten, dass auch arterielles Blut ein CO_2-Gehalt von im Mittel 34—40 Vol. Prozent hat, gegenüber dem venösen Blut, welches 43—48 Vol. Prozent CO_2 enthält.

XI. Sind Chloride zu der Methode verwendbar.

Suchen wir uns, um diese Frage zu beantworten, aus der Tabelle 7 einige Versuche heraus, in denen die Nichtchloride für die betreffenden Blutkörperchen gleiche Beschaffenheit, also Hämoglobinaustritt in isosmotischen Lösungen angezeigt hatten! Es hatten sich z. B. in Versuch 3 und 4 die Blutkörperchen in beiden Versuchen in einer Na_2SO_4-Lösung von 0,075 g Mol., in einer Zuckerlösung von 0,175 g Mol. als resistent erwiesen, resp. es waren diese beiden Konzentrationen bei den beiden Versuchen als Testlösungen aufgefunden worden. Wir müssen nun fordern, wenn NaCl verwendbar sein soll, dass bei diesen beiden Versuchen die NaCl-Testlösungen, wenn sie auch einen höheren osmotischen Druck haben, als die Na_2SO_4- und Zucker-Testlösungen, so doch unter sich einen gleichen osmotischen Druck resp. gleiche Konzentration haben. Dieses ist nun auch nicht der Fall, denn in Versuch 3 hat die NaCl-Testlösung eine Konzentration von 0,129 g Mol., in Versuch 4 eine Konzentration von 0,105 g Mol.NaCl.

Da also durch die beiden Nichtchloride bewiesen wird, dass die Blutkörperchen thatsächlich in den beiden Versuchen gleiche Eigenschaften hatten, folgt daraus, dass in beiden Versuchen ein ungleicher Übertritt von Cl-Jonen erfolgt war.

Wenn die Grösse der CO_2-Spannung im Blutkörperchen thatsächlich, wie es mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, allein die Grösse des Übertritt's der Chloride bestimmt, so hatten also die Blutkörperchen in den Versuchen 3 und 4, obwohl dieselben bei beiden Versuchen gleich lange mit Luft geschüttelt waren, keinen gleichen CO_2-Gehalt, woraus dann unter obiger Annahme auch ein ungleicher Übertritt von Chloriden resultirt.

Ein gleichmässiges „Mitluftschütteln“ giebt also keine Garantie für gleiche CO_2-Spannung und gleichen Cl-Übertritt.

Berücksichtigt man nun noch, dass der Unterschied der beiden NaCl-Testlösungen 0,12 g Mol. minus 0,105 g Mol.NaCl = 0,015 g Mol = 0,088% NaCl = 3 aufeinanderfolgende Lösungen beträgt, dass also das NaCl für Blutkörperchen, welche gleichmässig mit Luft geschüttelt wurden, 2 Lösungen als Testlösungen angezeigt hatte, die um 3 Lösungen differierten, so ist dieser Fehler also ziemlich bedeutend und eine Animosität gegen die Verwendung des NaCl zu der Methode am Platze.

Resumé.

Fassen wir die Ergebnisse der Versuche zusammen, so können wir Folgendes feststellen:

I. Der Hämoglobinaustritt bei der Hamburger'schen Methode muss als Folge der Wirkung osmotischer Kräfte gedeutet werden. Auf Grund folgender Befunde:

1. Bei den willkürlich gewählten Stoffen NaCl, KCl, Na_2SO_4, K_2SO_4 und Rohrzucker lag, wenn ich mit je einem Stoff mehrere Versuche neben einander anstellte und zwar mit demselben Blut, die Grenze des Hämoglobinaustritts immer in derselben Lösung.

2. Bei Versuchen mit mehreren dieser Stoffe neben einander und mit demselben Blut hatten die Testlösungen der Nichtchloride d. h. die Lösungen, welche die Grenze des Hämoglobinaustritts bildeten, stets gleichen osmotischen Druck.

Die Testlösungen der Chloride hatten einen höheren osmotischen Druck als die der Nichtchloride. Dieses Verhalten der Chloride konnte aber mit Aufrechterhaltung der Gesetze vom osmotischen Druck auch für diese Methode erklärt werden durch den Übertritt dissociierter Cl-Moleküle in die Blutkörperchen, wie es von verschiedenen Seiten nachgewiesen ist.

3. Für die Nichtchloride werden die Dissociationskoëfficienten mit denen nach physikalischen Methoden gefundenen gut übereinstimmend erhalten.

Die Dissociationskoëfficienten der Chloride erwiesen sich aus dem angegebenen Grunde als zu klein.

4. Das Molekulargewicht für die Nichtchloride konnte aus den Versuchen ziemlich genau berechnet werden.

Das der Chloride wurde aus dem erwähnten Grunde zu gross gefunden.

II. Mit Wahrscheinlichkeit deuten die Versuche mit künstlichem CO_2-Blut auch bei dieser Methode darauf hin, dass die CO_2 den Übertritt von Cl-Jonen vermittelt. Den Beweis hierfür mit dieser Methode zu erbringen, wird dadurch erschwert, dass man es nicht in der Hand hat, das Blut immer genau gleich venös zu machen, was schon daraus ersichtlich ist, dass schon bei den Testlösungen der Nichtchloride ansehnliche Differenzen des osmotischen Druckes hervorgerufen werden als Folge des verschiedenen CO_2-Gehaltes.

III. Der Verwendung der Chloride zu der Methode stellt sich Bedenken entgegen, da der Übertritt der Cl-Jonen und damit die Änderung des osmotischen Druckes ganz unregelmässig zu erfolgen scheint. Wird der Übertritt der Cl-Jonen durch die Grösse des jeweiligen CO_2-Gehaltes bestimmt, wie es auch aus den Versuchen mit dieser Methode mit Wahrscheinlichkeit folgt, so können wir, da wir den CO_2-Gehalt selbst nicht durch gleichmässes „Mitluftschütteln“ gleichmachen können, damit auch den Cl-Übertritt und die Änderung des osmotischen Druckes der Blutkörperchen nicht gleichmässig gestalten.

Herrn Geh. Medicinalrat Professor Dr. Bostroem statte ich meinen besten Dank ab für gütige Anweisung seines Instituts zu den Versuchen, Beschaffung des nötigen Materials und der Litteratur; dann auch als meinem Lehrer

während zweier Semester. In den Vorlesungen und praktischen Cursen, an denen teilzunehmen mir vergönnt war, wurde mir reichliche Belehrung und vielseitige Anregung zu teil.

Zu grossem Danke hat mich Herr Dr. Koeppe verpflichtet, der mir sowohl durch liebenswürdige Anleitung die leichtere Orientierung auf dem behandelten Gebiete der Hämatologie ermöglichte, als auch bei den Versuchen mir stets hülfreich an die Hand ging und denselben das regste Interesse schenke, welches letztere er auch der vorliegenden schriftlichen Bearbeitung der Versuche geneigtest bewahrte und welche er mir dadurch ganz wesentlich erleichtert hat. Auch an dieser Stelle Herrn Dr. Koeppe meinen Dank in wärmster Weise auszusprechen, ist mir eine angenehme Pflicht.

Litteratur-Verzeichnis.

[1]) Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik von Dr. N. Pringsheim. de Vries. „Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft.“ Bd. 14, Heft 4.

[2]) Pflüger's Archiv für die gesammte Physilogie 1896. Bd. 63.
Gryns, „Über den Einfluss der gelösten Stoffe auf die roten Blutzellen in Verbindung mit den Erscheinungen der Osmose und Diffussion.“ pag. 86.

[3]) Zeitschrift für physikalische Chemie 1887.
van't Hoff, „Die Rolle des osmotischen Druckes in der Analogie zwischen Lösungen und Gasen.“ pag. 481.

[4]) Zeitschrift für physikalische Chemie 1887.
Svante Arrhenius, „Über die Dissociation der in Wasser gelösten Stoffe.“ pag. 631.

[5]) Archiv für Anatomie und Physiologie 1886.
Hamburger, „Über den Einfluss chemischer Verbindungen auf Blutkörperchen, ein Zusammenhang mit ihren Molekulargewichten.“ pag. 476.

[6]) Dasselbe Archiv 1887.
Hamburger, „Über die durch Salz- und Rohrzuckerlösungen bewirkten Veränderungen der Blutkörperchen.“ pag. 31.

[7]) v. Limbeck, „Grundriss einer klinischen Pathologie des Blutes 1896.“

[8]) Zeitsch. f. physikal. Chem. 1894.
W. Löb, „Über Molekulargewichtsbestimmungen von in Wasser gelösten Substanzen mittelst der roten Blutkörperchen.“ pag. 224.
Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 67.

[9]) Koeppe, „Der osmotische Druck als Ursache des Stoffaustausches zwischen roten Blutkörperchen und Salzlösungen.“

[10]) W. Ostwald, Stöchiometrie 1891.

[11]) Archiv für pathol. Anatomie 1895.
Hamburger, „Über die Formveränderungen der roten Blutkörperchen in Salzlösungen, Lymphe, verdünntem Blutserum.“ pag. 230.

[12]) Zeitschr. f. Biologie 1891.
Hamburger, „Über den Einfluss der Atmung auf die Permeabilität der Blutkörperchen“. pag. 405.

[13]) Arch. f. experim. Pathol. 1895.
v. Limbeck, „Über den Einfluss des respiratorischen Gaswechsels auf die roten Blutkörperchen.“ pag. 309.

[14]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 1889.
de Vries, „Isotonische Koëfficienten einiger Salze.“

[15]) Zeitschr. f. Biologie 1890.
Hamburger, „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen im Zusammenhang mit den isotonischen Koëfficienten.“ pag. 414.

[16]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 1888.
de Vries, „Osmotische Versuche mit lebenden Membranen.“ pag. 415.

[17]) Gazetta degli Ospedali. Milano 1894.
Viola, „Alcune note intorno all' isotonia dei corpusculi rossi dell' uomo in condizioni fisiologiche et patologiche. p. 115.

[8]) A. Mosso, Rendi conti della R. Acad. dei Lincei. seduta del 3 aprile 1887.
Résistance des globules rouges. Archiv. italiennes de Biologie VIII. p. 257.

[19]) Gallerani, Résistance de la combinaeson entre l'hémoglobine et le stroma des corpuscules sanguins dans le jeûne. Archiv. italiennes de Biologie, 25 fevrier 1893, pag. 463.